741

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

-:-:-:-:-:-:-:-:-

THESE

Année 1962 N°

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

BAUDENS Jacques, Né le 13 Septembre 1935 à NIEPPE (Nord)

-:-:-:-:-:-:-:-:-

Présentée et soutenue publiquement le 1962

-:-:-:-:-:-:-:-:-

REACTION QUANTITATIVE DE FIXATION DU COMPLEMENT
TITRE A 50 % D'HEMOLYSE
TECHNIQUE et RESULTATS

-:-:-:-:-:-:-:-:-

Président : M. F.P. MERKLEN, Professeur.

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

-:-:-:-:-:-:-:-

THESE

Année 1962 N°

pour le

DOCTORAT en MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

BAUDENS Jacques, Né le 13 Septembre 1935 à NIEPPE (Nord)

-:-:-:-:-:-:-:-

Présentée et soutenue publiquement le 1962

-:-:-:-:-:-:-:-

REACTION QUANTITATIVE DE FIXATION DU COMPLEMENT
TITRE A 50 % D'HEMOLYSE
TECHNIQUE et RESULTATS

-:-:-:-:-:-:-:-

Président : M. F.P. MERKLEN, Professeur.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.); Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Debré (R.), Fey (B.), Gastinel (P.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Olivier (E.), Pasteur Valléry-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Quénu (J.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.),.

DOYEN ..... Léon BINET
Membre de l'Institut

Ier ASSESSEUR ..... Jean VERNE

2e ASSESSEUR ..... Gaston CORDIER

I. - PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	DELMAS, A.
Anatomie pathologique	DELARUE, J.
Anesthésiologie	BAUMANN, J.
Biochimie médicale	JAYLE, M.F.
" " (Prof. à titre personnel)	ETTORI, J.
" " (Prof. à titre personnel)	SCHAPIRA, G.
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT, P.
Bilogie médicale	FAUVERT, R.
" " (Prof. à titre personnel)	BOURLIERE, F.

MM.

Cancérologie médicale et sociale L.....	BERNARD, J.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)...	REDON, H.
Clinique cardiologique (Broussais)	MOUQUIN, M.
Cliniques chirurgicales ...(Beaujon	SICARD, A.
(Cochin	N
(Hôtel-Dieu	PATEL, J.
(Pitié	CORDIER, G.
(Saint Antoine	GOSSET, J.
(Salpétrière	MOULONGUET, P.
(Tenon	LORTAT-JACOB, J.L.
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)	FEVRE, M.
Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin).....	MERLE D'AUBIGNE, R.
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	GAUDART-D'ALLAINES
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)	MATHEY, J.
Clinique endocrinologique (Pitié).....	DECOURT, J.
Clinique de génétique médicale (Enfants-Malades)	LAMY, M.
Clinique gynécologique (Broca).....	FUNCK-BRENTANO, P.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (St. Louis)	DEGOS, R.
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	CATHALA, J.
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)	MOLLARET, P.
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Ste-Anne)	DELAY, J.
Clinique des métaboliques (Necker).....	HAMBURGER, J.
Clinique des maladies du sang (Broussais).....	MARCHAL, G.
Clinique des maladies d Système nerveux (Salpétrière).....	N

MM.

	(Boucicaut	LENEGRE, J.
	(Broussais	SOULIE, P.
	(Cochin	BROUET, G.
	(Cochin	JUSTIN-BESANCON, L.
Cliniques médicales	(Hôtel-Dieu.....	BARIETY, M.
	(Pitié	DREYFUS, G.
	(St-Antoine	KOURILSKY
Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)		DEBRAY, C.
Clinique médicale propédeutique (Broussais)		GENDRES, L. de
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la Nutrition (Hôtel-Dieu)		DEROT, M.
Clinique de neuri-chirurgie (Pitié).....		DAVID,M.
Clinique neurologique (Salpétrière)		GARCIN, R.
Cliniques obstétricales ..	(Baudelocque	LACOMME, M.
	(Foch (Suresnes).....	MERGER, R.
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal).....		VARANGOT, J.
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu).....		RENARD, G.
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)		AUBRY, M.
Clinique de pédiatrie et de puériculture (St Vincent-de-Paul).....		LELONG, M.
Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)		MARIE, J.
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)		BERNARD, E.
Clinique psychiatrique infantile (Salpétrière)		MICHAUX, L.
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)		COSTE, F.
Clinique stomatologique (Pitié)		DECHAUME, M.
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)		N
Clinique thérapeutique médicale (St Antoine)		LEMAIRE, A.
Clinique urologique (Cochin)		N
Embryologie		GIROUD, A.
"	(Prof. à titre personnel)	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)

	MM.
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	SEZE, S. de
Histologie	VERNE, J.
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau).....	TURPIN, R.
Hygiène et médecine préventive	JOANNON, P.
" " (Prof. à titre personnel).	DEPARIS, M.
Médecine du travail	DESOILLE, H.
Médecine légale	PIEDELIEVRE, R.
Microbiologie (Bacteriologie et virologie).....	FASQUELLE, R.
Parasitologie	GALLIARD, H.
" (Prof. à titre personnel).	BRUMPT, L.C.
Pathologie chirurgicale	COUVELAIRE, R.
" (Prof. à titre personnel)	LAURENCE, G.
Pathologie exotique	LAVIER, G.
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN, F.P.
Pathologie médicale	MILLIEZ, P.
Pathologie respiratoire	TURIAF, F.
Pathologie et thérapeutique générales	BOUDIN, G.
Pharmacologie	CHEYMOL, J.
" (Prof. à titre personnel)	LEVY, MLLE J.
Physiologie	BINET, L.
" (Prof. à titre personnel)	BARGETON,D.
" "	BARROT, J.
Physiologie et pathologie obstétricale	LEPAGE, F.
Physique médicale	DOGNON, A.
" " (Prof. à titre personnel)	DJOURNO, A.
Radiologie médicale	DESGREZ, H.
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	LEGER, L.
Thérapeutique	CONTE, M.

II - PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGREGES ET MAITRES DE CONFERENCE - AGREGES

	MM.
Anatomie	CABROL, C.
	COUINAUD, C.
	OLIVIER, G.
	GAUTHIER-VILLARS Pr.s.ch. (MLLE P.)
	BUSSER, F.
Anatomie pathologique	GOUYGOU, Ch.
	ORGEL, L.
	PAILLAS, J.
Anesthésiologie	VOURC'H, G.
	BARBIER, P.
Bacteriologie	CHRISTOL, D.
	TOURNIER, P.
Biochimie médicale	DESGREZ, P.
	POLONOSKI, J. m. conf.
Biologie appliquée à l'Education Physique et aux Sports	PLAS, F.
Carcinologie	DENOIX, P.
	MATHE, G.
Dermato-Syphiligraphie	DUPERRAT, B.
Electro-Radiologie	LEDOUX-LEBARD,G.
Hématologie	BILSKI-PASQUIER, G
	DAUSSET, J.
Histologie	COUJARD, R. pr.s.ch.
	MAROIS , M.
	RACADOT, J.
Hydrologie	CORNET,A.
Hygiène	BOYER, J. pr.s.ch.
	CORRE-HURST, Mme L

	MM.
Maladies infectieuses	BASTIN, R.
	DUPONT, V.
Médecine légale	DEROBERT, L. pr.s.ch.
	HADENGUE, A.
	FOURNIER, E.
	GUENIOT, M.
Médecine du travail	ALBAHARY, C.
Neurologie	LHERMITTE, F.
Obstétrique	GRANJON, A.
	HERVET, E.
	LE LORIER, G.
	MORIN, P.
	MUSSET, R.
	ROBEY, M.
	THOYER-ROZAT, J.
Ophtalmologie	BREGEAT, P.
	SARAUX, H.
Orthopédie	JUDET, R.
	RAMADIER, J.
Oto-rhino-Laryngologie	DEBAIN, J.
Parasitologie	CHABAUD, A.
	BARGAT, J.
	BINET, J.P.
	CAUCHOIX, J.
	CHATEMIN, C.
	DUBOST, Cl.
	DUBOST, Ch.
	FAUREL, J.
Pathologie chirurgicale	FLABEAU, F.
	GERMAIN, A.
	LOYGUE, J.

	MM.
	MERCADIER
	PERROTIN, J.
	ROBERT, H.
	THOMERET, G.
Pathologie exotique	SCHNEIDER, J.
	CROSNIER, J.
	HARTMANN, L.
Pathologie experimentale	LOEPER, J.
	MAURICE, J.
	RICHET, G.
Pathologie médicale	AUSSANNAIRE, M.
	BOUR, H.
	BOUVIER, J.
	BOUVRAIN, Y.
	BRICAIRE, H.
	BRISSAUD, H.
	BROCARD, H.
	BUGE, A.
Pathologie médicale (suite)	CASTAIGNE, P. m. conf.
	CATINAT, J.
	CONTAMIN, F.
	COURY, C.
	FRESAL, J.
	HOUSSET, E.
	LAROCHE, Cl.
	LESOBRE, R.
	MAGREZ, C.
	NICK, J.
	PEQUINOT, H. pr. s. ch.
	ROYER, P.
	WOLFROMM, R.

	MM.
	JOSEPH, R.
	MANDE, R.
Pédiatrie-Puériculture	MOZZICONACCI, P.
	POLONOVSKI, C.
	ROSSIER, A.
Pharmacologie	BOISSIER, J.
	LECHAT, P.
Physiologie	DEJOURS, P.
Physique médicale	GOUGEROT, L. m. conf. pr. s. Ch.
	KELLERSHOHN
Pneumo phtisiologie	KREIS, B.
Psychiatrie	PICHOT, P.
Psychiatrie infantile	DUCHE, D.
Rhumatologie	DELBARRE, F.
Stomatologie	CERNEA, P.
	CHAPUT, Mme A. m. c. agr.
	GRELLET, M.
Thérapeutique	CHASSAGNE, P.
	LAMOTTE, M.
Urologie	QUENU, L.

III - PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent.

	MM.
Anatomie	DEBEYRE
	ABOULKER, P.
	AMELINE, A. pr. s. ch.
	HUGIER, J.
	OLIVIER, C.

	MM.
Clinique chirurgicale	PADOVANI, P.
	POILLEUX, F.
	ROUX, M.
	VERNE, J.M.
	DOMART, A.
	PERRAULT, M.
Clinique médicale	RAMBERT, P.
	THIEFFRY, S.
Clinique obstétricale	GRASSEY, J.
	MAYER, M.
	RAVINA, J.
Clinique ophtalmologique	DESVIGNES, P.
	OFFRET, G.
Clinique oto-rhino-laryngologique	MADURO, R.
Clinique pédiatrique et puériculture	LAPLANE, R.
Clinique psychiatrique	BARUK, H.
Clinique urologique	KUSS, R.
Médecine légale	GAULTIER

IV - PROFESSEURS DETACHES DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Bactériologie	HAUDUROY, P. pr. s. ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER, J. pr. s. ch.

V - CHARGES DE COURS D'HYGIENE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE :

.....	BOLTANSKI, E.
	LAUNAY, C.
Secrétaire générale de la Faculté.....	M. LENA, J.
Secrétaires	Mme BEURLAND,H.
	MLLe CHAINTREUIL, G
	Mme ROCHE, L.

Conservateur en Chef ..... M. le Docteur HAHN

Conservateur ..... MLLe DUMAITRE, P.

Bibliothécaires ..... Mme CONTET, J.
Mme FORGET, F.
MLLe LAURENT, H.
MLLe LE NOIR, G.
Mlle QUIEVREUX, E.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MON FILS

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A Monsieur le Professeur F.P. MERKLEN

Qui m'a inspiré cette thèse et m'a fait l'honneur
de la présider.

En témoignage de mes sentiments respecteux et dévoués.

A Monsieur le Professeur C. MIKOL

En témoignage de ma profonde gratitude pour ses précieux conseils et le constant intérêt qu'il a porté à ce travail.

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE

ET DES HOPITAUX DE PARIS.

A ceux qui m'ont aidé dans ce travail, et particulièrement

A Monsieur le Docteur M. RENOUX

En remerciement de l'aide qu'il m'a apportée dans la rédaction de ce travail.

A Mademoiselle Marguerite BIZON

Qui m'a fait largement bénéficier de son expérience.

A Mesdemoiselles M.F. JICQUEAUX et O. MENAGER

Pour leur précieuse collaboration.

REACTION QUANTITATIVE DE FIXATION DU COMPLEMENT

TITRE A 50 % D'HEMOLYSE

TECHNIQUE ET RESULTATS

==========

S O M M A I R E

Introduction ..... p. 2

PREMIERE PARTIE : Les Réactions de Fixation du complement.

Historique ..... p. 4

Chapitre I : La réaction d'hémolyse ..... p. 6

Chapitre II : Réaction de fixation du complement ..... p. I3

Chapitre III : Antigènes syphilitiques ..... p. 2I

DEUXIEME PARTIE : Technique personnelle de réaction quantitative de fixation du complément

Chapitre I : Titrage du complément à 50 % d'hémolyse .. p. 27

Chapitre II : Réaction quantitative de fixation du complement ..... p. 32

Chapitre III : Résultats ..... p. 37

Chapitre IV : Intérêt des réactions quantitatives..... p. 45

Chapitre V : Intérêt de l'antigène de Reiter ..... p. 50

Résumé ..... p. 53

Conclusions ..... p. 57

Bibliographie ..... p. 59

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

INTRODUCTION

L'élément essentiel des réactions d'hémolyse est le complément . Ce complément correspond à un ensemble de quatre facteurs plasmatiques, constituant un système cyto-toxique qui joue un rôle dans diverses réactions immunologiques . En présence des anticorps spécifiques ou d'autres agents sensibilisants, il tue certaines bactéries et certains protozoaires, lyse les hématies immobilise les tréponèmes, provoque la réaction d'immuno-adhérence et la phagocytose, et, dans certains cas, participe à la neutralisation des virus : en fait, dans des conditions expérimentales favobles, le complément réagit avec toutes sortes de complexes antigène-anticorps.

PREMIERE PARTIE

LES REACTIONS DE FIXATION DU COMPLEMENT

HISTORIQUE

La découverte du complément a suivi les observations de J. von FODOR (I886) sur le pouvoir bactéricide du sang, de G. NUTTAL (I886) qui montra la baisse de ce pouvoir bactéricide par vieillissement et la perte de son activité par chauffage à 56° c , de H. BÜCHNER (I889) qui prouva l'existence de ce principe bactéricide dans le sérum dépourvu de tout élément figuré .

Après la découverte de R. PFEIFFER et R. ISSAEF (I894) de la lyse in vivo du vibrion cholérique par le péritoine d'un cobaye immunisé, J. BORDET (I895) découvrit la bactériolyse in vitro et démontra que le pouvoir bactéricide du sérum immun était détruit par chauffage à 56° c, mais était rétabli par addition de sérum normal : la bactériolyse nécessitant donc deux substances distinctes, l'une appelée complément (BORDET) ou alexine (BÜCHNER) thermolabile et présente dans le sérum normal, l'autre, thermostable, en rapport avec l'immunisation, anticorps spécifique appelé sensibilisatrice. Ultérieurement, a été démontré que l'hémolyse spécifique nécessitait aussi la présence de deux facteurs : le complément et l'anticorps anti-hématies ou hémolysine .

P. ERLICH et J. MORGENROTH (I899, I900) montrèrent que l'embocepteur (hémolysine) pouvait se combiner avec les hématies correspondantes en l'absence de complément, provoquant alors une hémagglutination, alors que la fixation du complément par les hématies n'a lieu qu'en présence d'ambocepteur .

Outre son action sur les bactéries, les protozoaires, les hématies, le complément se combine avec les complexes antigènes anticorps provenant d'antigènes solubles ; en fait, les diverses activités immunologiques du complément peuvent être considérées comme la conséquence de son pouvoir de combinaison avec le complexe antigène -anticorps .

Si des agrégats antigène-anticorps formés dans un sérum frais contenant du complément ou des agrégats antigène-anticorps déjà formés sont mis au contact de sérum frais, l'activité hémolytique du complément ne peut plus avoir lieu avec le système globule rouge de mouton - hémolysine : le complément a été fixé par le premier complexe antigène-anticorps . Tel est le fondement de la réaction de fixation du complément proposée par J. BORDET et O. GENGOU (I90I) pour la détection de l'anticorps antipesteux, et appliquée en I906 à la syphilis par WASSERMANN, NEISSER et BRÜCK .

Depuis lors, de nombreuses variantes ont vu le jour, mais elles sont toutes basées sur le même principe .

CHAPITRE I

LA REACTION D'HEMOLYSE

Dans une réaction de fixation du complément, on met en jeu cinq éléments, à savoir le sérum du sujet, l'antigène et le complément dans un premier temps, un système hémolytique formé d'hématies de mouton et de sérum hémolytique anti-mouton dans un deuxième temps. La fixation du complèment par le complexe antigène-anticorps est révélée par l'absence d'hémolyse des hématies de mouton par le sérum hémolytique anti-mouton.

Courbe d'hémolyse - Avantage de l'unité 50 % .

L'activité hémolytique du complément a d'abord été évaluée en recherchant la plus petite quantité de sérum frais, susceptible d'entrainer l'hémolyse complète d'une quantité donnée d'hématies sensibilisées (globules rouges de mouton en présence d'hémolysine de lapin anti-globules rouges de mouton).

Cependant l'étude de l'hémolyse à 50 % parait plus logique : en effet le pourcentage d'hémolyse n'est pas une fonction linéaire de la quantité de complément consommée ; la courbe de l'hémolyse est sigmoïde , tendant vers l'horizontale pour les hémolyses importantes, ayant une pente forte pour une hémolyse partielle . En examinant cette courbe, on s'aperçoit que le nombre de globules rouges lysés n'est pas directement proportionnel au volume de complément utilisé: en effet on remarque qu'il faut atteindre une certaine concentration en complément pour que la réaction commence . Ce seuil dépassé, ce sont les globules rouges sensibilisés les plus fragiles qui sont hémolysés les premiers, puis ceux de résistance moyenne, enfin les plus résistants qui exigent pour être détruits une concentration relativement élevée de complément . Ce phénomène indique que la masse des hématies sensibilisées est composée d'individus réagissant différemment à l'action du complément . C'est pourquoi il parait

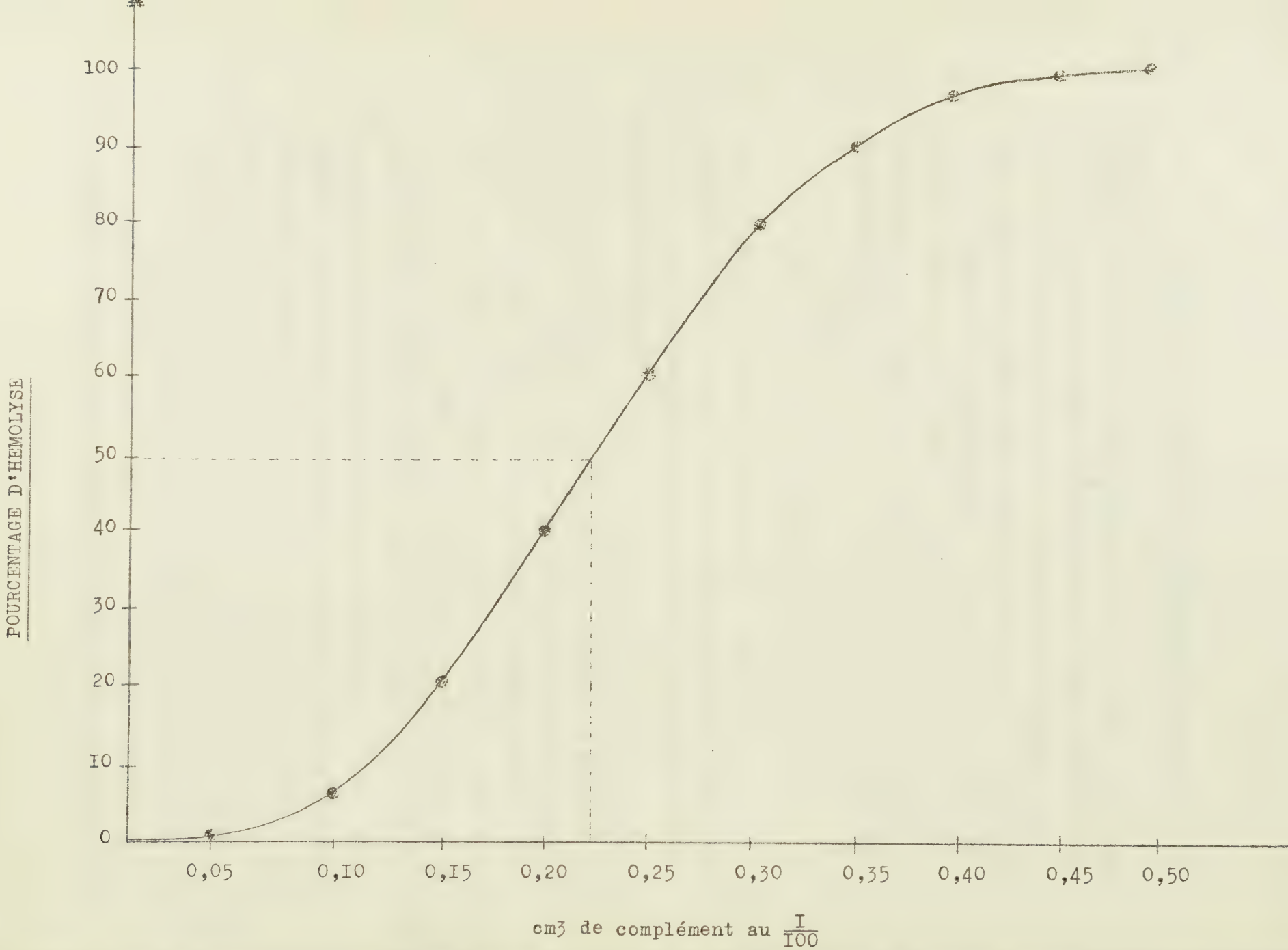


FIGURE I. Pourcentage d'hémolyse en présence de globules rouges de mouton sensibilisés en fonctio

préférable de titrer un complément d'après son action sur les globules rouges de valeur moyenne.

Par ailleurs , si on examine le point de la courbe correspondant à 50 % d'hémolyse, on voit qu'il en constitue le point d'inflexion ; c'est aux alentours de ce point que, pour une faible variation du volume du complément utilisé, la variation correspondante du pourcentage d'hémolyse est la plus grande : ce point reflète donc avec plus de précision l'activité hémolytique d'un complément que le point IOO % qui est situé sur une asymptote.

Equation de la courbe d'hémolyse - Calcul mathématique de l'unité 50 %

C'est VON KROGH qui, le premier, en I9I6, avait montré que l'unité 50 %, ou quantité de complément capable d'hémolyser à 37° c , 50 % des hématies de mouton sensibilisées, pouvait être déterminée avec beaucoup plus de précision que l'unité classique que l'on peut appeler par opposition unité IOO %, ou plus petite quantité de complément capable d'hémolyser totalement les hématies de mouton sensibilisées.

VON KROGH a établi l'équation de la courbe sigmoïde de l'hémolyse en fonction de la quantité de complément . Cette équation s'exprime de la manière suivante :

$$x = K \left(\frac{y}{I-y}\right)^{\frac{I}{n}}$$

x représente la quantité de complément (exprimée en ml de sérum de cobaye dilué, et y représente le degré d'hémolyse en pourcentage . La constante K correspond à l'unité d'hémolyse 50 % puisqu'à cepoint de la courbe $y = 0,50$ et alors $x = K$.

La valeur de l'exposant $\frac{I}{n}$ qui détermine la forme de la courbe dépend des conditions expérimentales ; elle est notamment fonction de la concentration des hématies sensibilisées et de la concentration en calcium et varie dans le même sens que ces deux facteurs . Elle est ordinairement de $0,2 \mp 0,02$ (d'après WADSWORTH .

L'activité hémolytique du complément s'accroit en même

temps que la concentration des hématies sensibilisées comme en témoigne la valeur du rapport K / nombre de globules rouges.

De plus, le coefficient $\frac{I}{n}$ change si les différentes dilutions de complément utilisées pour l'établissement de la courbe sont soumises à un chauffage à 37° c avant l'addition de globules rouges sensibilisés, sans doute en raison d'une perte d'activité pendant l'incubation plus marquée pour les fortes dilutions de complément ; si bien qu'après incubation, la quantité de complément contenue dans chaque tube ne correspond plus à la quantité initialement distribuée. KENT, BUKANTZ et REIN utilisent la formule de VON KROGH sous sa forme logarithmique .

$$\log x = \log k + \frac{I}{n} \log \left(\frac{y}{I - y}\right)$$

La courbe représentative de l'équation de VON KROGH sous sa forme logarithmique est une droite de pente $\frac{I}{n}$ et d'ordonnée à l'origine log K qui peut servir à la détermination graphique de l'unité 50 % (Heidelberger et Mayer).

Le dosage du complément consiste alors à évaluer l'hémolyse pour au moins deux points de la courbe situés de préférence entre 20 % et 80 % d'hémolyse, et en déduire par interpolation le point K correspondant à l'hémolyse à 50 % .

Etude de différents facteurs influençant l'unité 50 % .

L'unité d'hémolyse à 50 % est définie par la quantité de complèment nécessaire à une hémolyse de 50 % des globules rouges sensibilisés . C'est une unité arbitraire puisqu'elle dépend de la concentration de globules rouges, de leur fragilité, de la quantité d'hémolysine, de la force ionique du système, de la concentration en cations Ca^{++} et Mg^{++} , du pH, de la durée de la réaction et de la température .

I. Action de la concentration en globules rouges .

Pour une quantité constante de complément, l'hémolyse, en chiffre absolu, est indépendante de la concentration en globules rouges (la quantité d'anti-corps par hématie étant constante), tout au moins

dans les limites de IOO à 500 molécules d'anticorps (Anti-Forsmann) par hématie .

Pour des taux plus élevés de sensibilisatrice,la vitesse et l'importance de l'hémolyse tend à croitre avec la concentration en globules rouges, alors que l'inverse se produit au dessous de IOO molécules d'anti-corps par hématie .

La quantité de complémenr nécessaire pour l'hémolyse à 50 % augmente évidemment avec la concentration des globules rouges sensibilisés .

2. Action de la concentration en hémolysine .

Le pouvoir hémolytique du complément dépend de la quantité d'hémolysine utilisée pour sensibiliser les globules rouges. En règle, il augmente avec le degré de sensibilisation .

L'interférence de l'hémolysine naturelle, présente dans le sang de la plupart des animaux, est de peu d'importance dans le titrage du complément de cobaye qui a un titre de complément relativement élevé . Il n'en serait pas de même avec le titrage du complément humain .

3. Action de la force ionique .

L'activité hémolytique du complément varie en sens inverse de la force ionique (vraisemblablement en raison de la sensibilité du facteur C' 3 du complément à la salinité) .

4. Action du volume liquidien .

L'activité hémolytique du complément varie en sens inverse du volume total : si les quantités de globules rouges sensibilisés et de complément sont constantes, mais si le volume du liquide de dilution augmente, le degré d'hémolyse diminue . Cet effet est dû aux fractions C'_2 et C'_3 du complément dont l'activité dépend de la concentration .

5. Action des ions Ca^{++} et Mg^{++} .

L'ion Mg^{++} augmente l'activité hémolytique du complément

le système hémolytique ne doit pas normalement contenir assez de Mg^{++} pour avoir une activité optimale .

Pour un taux optimal de Mg^{++}, un léger accroissement de l'activité du complément de cobaye est obtenu par des traces supplémentaires de Ca^{++} (ce qui n'est d'ailleurs pas le cas avec le complément humain ou le complément de singe ou de rat).

Ca^{++} agit sur la réaction avec C'_I , Mg^{++} est nécessaire pour la réaction avec C'_2 . Cependant l'addition de Ca^{++} peut interférer sur la réaction de C'_2 .

Dans le titrage de l'activité hémolytique du complément il est nécessaire de déterminer un équilibre d'activité optimale pour Ca^{++} et Mg^{++}, qui n'est d'ailleurs pas forcément le même pour le complément de cobaye et les autres compléments.

Des anions tels que citrate, pyrophosphate ou éthylène - diamine - tétracétate (EDTA) qui se lient aux cations Ca^{++} et Mg^{++} inhibent l'activité hémolytique du complément .

Dans les réactions de fixation du complément l'addition de Ca^{++} et Mg^{++} est souhaitable pour atteindre un taux optimal d'activité, d'autant que le sérum peut contenir certaines substances qui se lient au Mg^{++} .

6. Action du pH .

L'activité du complément diminue avec l'élévation du pH (pour d'assez fortes concentrations en Ca^{++} et Mg^{++} et en tampon véronal).

7. Action de la température .

Les réactions d'hémolyse sont généralement faites à 37° c. Cependant des titres plus élevés sont obtenus au voisinage de 30° c, en raison de la plus grande stabilité de $E\ A\ C'_{I,4,2}$, (complexe formé par l'hématie, l'hémolysine et trois fractions du complément) . Mais à 30° c, il faut environ trois heures pour atteindre le terme de la réaction , alors qu'une incubation de 60 à 90 minutes suffit à 37° c.

La fixation du complément est plus grande pour une incubation d'une nuit à la glacière que pour 90 minutes à 37° c. La raison n'en est pas claire . Les facteurs C'_I , C'_4, et C'_2 se fixent à froid, mais la fixation de C'_3 (mesurée par son action sur le complexe $E\ A\ C'_{I,\ 4,\ 2}$) dépend nettement de la température.

Titre d'un complément .

Il est défini comme étant le nombre d'unités 50 % contenues dans I ml de sérum non dilué . Par exemple, s'il faut 4 ml de sérum de cobaye dilué au I/800 pour avoir une hémolyse à 50 %, le titre est de 200 unités 50 % par ml (M.M. MAYER).

Titre de l'hémolysine .

L'unité d'hémolysine est définie par le volume d'antisérum (exprimé en ml) qui, en présence de I2 unités de complément à 50 %, d'une quantité optimale de Ca^{++} et de Mg^{++} et pour une force ionique de 0,I47, hémolyse 500.000.000 sur I.000.000.000. de globules rouges pour un volume total de 5 ml, à la température de 37° c (M.M. MAYER).

CHAPITRE II

REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT

Mécanisme de la réaction .

Pour ERLICH, l'anticorps n'est qu'un lien entre l'antigène et le complément qui entraine l'hémolyse : l'anti-corps a deux pôles, l'un se combine au globule (groupement cytophile), l'autre au complément (groupement complémentophile), aussi l'appelait-il " ambocepteur ".

Pour Bordet l'anticorps ne lie pas le complément à l'antigène mais sensibilise ce dernier, de sorte que le complément est adsorbé par l'anti gène sensibilisé : " la fixation d'alexine est un phénomène d'adsorption comparable au dépôt d'une couleur sur un objet solide plongé dans un bain, ou au collage de ferments ou toxines par des précipités ou matières pulvérulentes diverses telles que le noir animal, ou bien encore aux phénomènes d'agrégation mutuelle des particules de deux colloïdes qu'on mélange - Selon cette conception, de même que l'agglutinine, troublant les rapports d'adhésion avec le liquide, crée la floculabilité, la sensibilisatrice, modifiant les propriétés de contact de l'antigène, ferait apparaitre l'affinité d'adsorption vis-à-vis de l'alexine " (BORDET).

- Rôle de la taille des particules . La combinaison du complément au complexe antigène - anticorps dépend de l'origine de l'anticorps et non de celle du complément ; elle dépend aussi de la taille du complexe, bien que la formation d'un précipité ne soit pas nécessaire à la fixation du complément . La fixation maxima est obtenue avec des particules assez grandes pour provoquer l'opalescence, mais pas assez pour être visibles (GOLDWORTHY 1928) .

La proportion d'antigène et d'anticorps la plus favorable à la floculation n'est pas celle qui convient le mieux à la capture de l'alexine : pour que cette adsorption soit énergique, mieux

vaut mettre en jeu moins d'antigène et plus d'anticorps qu'il n'en faut pour provoquer la floculation maximum . Le complément se fixe mieux dans le mélange où le précipité ne s'est pas encore agrégé en flocons .

Pour EAGLE (I935), l'accroissement de sensibilité de l'antigène de WASSERMANN par des stérols sérologiquement inactifs est dû à la taille des particules ; le stérol se comporte comme un noyau autour duquel se déposent les lipides actifs, formant ainsi des particules plus grandes qui, enveloppées d'anticorps, fixeront mieux le complément que des particules dépourvues de stérol . Les proportions d'anti-sérum et d'antigène peuvent largement varier sans modifier notablement la fixation du complément ; dans les expériences qui montrent une proportion plus favorable d'antigène, les trois constituants de la réaction sont mélangés simultanément si bien que le facteur décisif peut être encore la taille des particules .

- Durée . La combinaison du complément aux deux autres constituants est d'abord rapide, puis se ralentit . Le temps déterminé pour l'incubation du complément (généralement 45 minutes à la température du laboratoire ou I8 heures à la glacière) est un compromis entre le taux de fixation et le taux de destruction du complément .

- Nature du complément .

Une des caractéristiques du complément est la perte de son activité par chauffage à 56° c pendant une demi-heure , bien que la plupart des protéines sériques résistent à ce traitement .

En précipitant les euglobulines du sérum frais (par dilution dans l'eau distillée légèrement acide) on divise le complément en deux parties : une fraction qui reste dissoute et une fraction qui précipite - chacune d'elle est démunie de toute activité mais leur réunion reconstitue le complément actif .

Poussant plus loin cette analyse, les auteurs modernes dénombrent quatre composants du complément désignés sous les symboles C'_I, C'_2, C'_3 et C'_4 - Les deux premiers composants sont détruits

par la chaleur , les deux autres sont thermo-stables. C'_3 est détruit par la zymase de la levure et par le venin de cobra ; C'_4 l'est par l'ammoniaque ou les amines primaires . L'action de ces diverses substances sur le sérum frais fait disparaitre l'activité complémentaire qui réapparait lorsqu'on ajoute du sérum inactivé par chauffage à 56 ° c.

Au point de vue clinique, C'_I est une globuline ; les fractions C'_2 et C'_4 ont été obtenues ensemble sous la forme d'une muco-euglobuline . La fraction C'_4 serait un phospholipide ou une phosphoprotéïne.

- Principe de la Réaction de Fixation du complément .

Comme le complément peut se combiner à de nombreux complexes antigène-anticorps, il est souvent utilisé comme indicateur dans les réactions sérologiques . Il permet la mise en évidence d'une réaction immunologique de précipitation ou agglutination .

L'utilisation du complément est particulièrement intéressante puisqu'elle permet l'emploi d'antigènes solubles ou insolubles.

Le principe de la réaction de fixation du complément est classique, nous l'exposerons donc d'une manière succincte .

Cette réaction consiste à mettre en présence l'antigène, le sérum à étudier et le complément (sérum frais de cobaye) . Deux éventualités peuvent alors se présenter : I/ si le sérum contient l'anticorps, celui-ci forme avec l'antigène un complexe qui peut être directement visible (agglutination, floculation), mais qui va en tous cas fixer le complément présent dans le milieu . Cette fixation a lieu dans le premier temps de la réaction . Elle pourra être mise en évidence dans un deuxième temps, par addition au milieu de globules rouges sensibilisés : le complément ayant disparu, l'hémolyse ne se produit pas : la réaction est dite positive . 2/ si le sérum ne contient pas l'anticorps recherché, il ne se forme pas de complexe dans le premier temps de la réaction, et le complément peut alors se fixer sur le système hémolytique : il y a hémolyse totale, et la réaction est dite négative .

Lorsque la réaction est positive, la dose de complément fixé est d'autant plus grande que la quantité de complexe antigène-anticorps formé est plus importante . C'est là le principe de la

mesure de l'anticorps contenu dans un sérum .

L'emploi d'une quantité de complément limitée et bien déterminée est donc indispensable .

La dose de complément à utiliser s'exprime en unités hémolytiques ; les facteurs modifiant l'activité hémolytique doivent être soigneusement contrôlés, tels que le nombre des hématies, quantité et qualité de l'hémolysine, durée de la réaction, pH, température .

Pendant longtemps, les techniques de fixation du complément ont, pour la plupart, utilisé deux unités hémolytiques de complément à IOO % d'hémolyse. Comme il a été vu plus haut, la courbe de l'hémolyse en fonction de la quantité de complément se termine par une asymptote, et l'hémolyse à IOO % ne correspond pas à un point final nettement défini lors du titrage du complément . C'est pourquoi l'adoption de l'unité d'hémolyse à 50 %(C' H 50)est préférable . L'expérience a montré que 5 unités de C' H 50 représentent une dose convenable pour la plupart des réactions de fixation du complément .

Si le système immun étudié fixe les 5 unités C' H 50, l'hémolyse n'aura pas lieu, et il contient l'anticorps recherché . S'il fixe seulement 4 unités C' H 50, l'unité restante hémolysera les globules sensibilisés : l'expérience a montré que la fixation de I unité (ou moins) sur 5 unités C' H 50 donne une hémolyse supérieure à 50 % et doit être considérée comme une réaction négative.

Le choix de ce point est basé sur le désir d'éliminer ou de réduire au minimum les réactions faussement positives . Certes la sensibilité peut être augmentée en prenant 3 sur 5 unités C' H 50 ou 2 sur 4 unités C' H 50 ; mais un tel accroissement de sensibilité aurait lieu aux dépens de la spécificité .

Dans les techniques habituelles, les réactions se font avec des volumes relativement petits et des erreurs de IO %, voire même de 20 % ne sont pas rares . De plus, un des agents de la réaction peut être légèrement anti-complémentaire (diminuant le pouvoir hémolytique du complément), et ainsi une diminution de IO à 25 % du pouvoir hémolytique peut apparaitre suivant les conditions d'expériences . Aussi est-il nécessaire de garder une marge de sécurité pour éviter les fausses positivités d'origine technique .

Pouvoir anti-complémentaire .

Comme le complément peut être fixé ou inactivé par d'autres facteurs que le complexe antigène-anticorps, toute réaction de fixation du complément doit être contrôlée par un certain nombre de témoins qui permettent d'affirmer le caractère spécifique de la fixation .

Parfois le sérum inactive le complément en l'absence d'antigène et, à l'inverse certains antigènes peuvent influer sur le pouvoir hémolytique du sérum : ils sont alors dits anti-complémentaires.

Certaines bactéries et certaines levures interfèrent avec l'activité hémolytique du complément : une contamination du sérum, de l'antigène peut donc avoir pour conséquence un pouvoir anti-complémentaire sans doute par formation de complexes immuns entre les micro-organismes et les anticorps correspondants présents dans le sérum .

Le pouvoir anti-complémentaire peut aussi être en rapport avec l'agrégation de gamma-globulines, de telles particules étant susceptibles de fixer le complément comme les complexes antigènes-anticorps . L'agrégation peut être obtenue par chauffage des gamma-globulines et même spontanément lors du vieillissement des sérums. Les sérums myélomateux sont doués d'un puissant pouvoir anti-complémentaire .

Les corps qui s'emparent des cations Mg^{++} et Ca^{++} exercent un pouvoir anti-complémentaire en l'absence d'un excès de ces cations ; l'adoption d'un liquide de dilution contenant suffisamment de Ca^{++} et Mg^{++} permet de l'éviter.

L'emploi d'une assez forte concentration de sérum peut quelquefois avoir un pouvoir pro-complémentaire c'est-à-dire augmenter le pouvoir hémolytique du complément . Le complément du sérum ayant été inactivé par chauffage à 56° C pendant une demi-heure ne doit pas être le responsable, qui serait plutôt l'hémolysine capable d'augmenter l'activité hémolytique des globules rouges de mouton . Un épuisement préalable des hémolysines est donc souhaitable, en traitant le sérum à analyser avec une suspension de

globules rouges de mouton .

En conclusion , la conduite à tenir pour éviter, ou au moin réduire, les réactions faussement positives par pouvoir anti-complémentaire est de tester séparément l'antigène et l'anticorps.

Un autre contrôle consisterait à faire une réaction avec seulement trois unités C' H 50 (au lieu de 5) : cette dose de complément est alors juste suffisante pour l'hémolyse complète et peut décéler un pouvoir anti-complémentaire même léger .

Analyse quantitative de la fixation du complément .

Différentes méthodes ont été proposées pour essayer d'évalu la richesse en anticorps d'un sérum . On a tout d'abord essayé d'apprécier l'intensité de l'hémolyse par une notation en croix (+, ++, +++, ++++) ou une notation du degré de l'hémolyse (de H_8 pour l'hémolyse complète à H_0 pour l'absence totale d'hémolyse);on ne peut ainsi mesurer que les faibles positivités car un plafond est rapidemen atteint, qui enlève toute valeur quantitative à cette échelle colorimétrique . Une appréciation plus valable résulte des variations de la quantité de complément (réaction de CALMETTE et MASSOL).

Pour évaluer la plus ou moins grande richesse en réagine des sérums positifs, force est donc de recourir à une estimation nettement quantitative : l'appréciation par micro-dosage d'azote de la réagine fixée dans le complexe antigène-anticorps (F.P. MERKLEN et P. BERTHAUX) permettrait une évaluation précise du taux de réagine des sérums positifs, mais elle est techniquement longue et délicate ; l'opacimétrie avec les degrés photométriques de la réaction de Vernes postule une proportionnalité discutable pour des fortes terreurs.

La méthode des dilutions évélue le taux d'anticorps d'après la plus forte dilution donnant encore une positivité franche ; elle met en présence une quantité fixe d'antigène et des quantités décroissantes de sérum , donc de réagine . L'expression des résultats se fait en règle en notant l'inverse de la dernière dilution encore nettement positive (ainsi 2, 4, 8, I6.. indiquent une positivité nette limite aux dilutions respectives de I/2, I/4, I/8, I/I6 ...) .

Cette méthode est simple et rapide, mais elle néglige le point d'équivalence correspondant au maximum de formation du complexe antigène-anticorps . Cependant lorsqu'il s'agit d'une comparaison des différents sérums vis-à-vis d'un même antigène, dans des conditions techniques bien déterminées, elle a une valeur indiscutable, et vu sa commodité d'emploi, c'est elle que nous avons choisi dans notre travail .

On peut d'ailleurs augmenter de beaucoup la précision des mesures en recherchant non plus l'hémolyse totale à IOO %, mais l'hémolyse à 50 % soit par comparaison avec des étalons colorés soit, ce qui est préférable, par mesure électro-photométrique (KENT).

Pour terminer ce chapître sur la réaction quantitative de fixation du complément, nous allons étudier quelques méthodes proposées par différents auteurs .

MAYER et ses collaborateurs préconisent l'incubation pendant 90 minutes à 37° C ou 20 heures à 2-4° C du mélange antigène anticorps en présence d'une grande quantité de complément (50, IOO ou 200 C ' H 50) . La différence entre le nombre d'unités C' H 50 restant dans le tube de la réaction et les témoins donne le nombre d'unités C' H 50 fixées spécifiquement . L'activité s'exprime en unités C' H 50 et s'obtient par évaluation graphique ou par calcul grâce aux tables de conversion.

La technique de STEIN et Van NGU, très sensible, diffère par l'utilisation de seulement deux unités de C' H 50 (au lieu de 50 ou IOO) . Ces taux de complément produit une hémolyse d'environ 90 % et, par conséquent, toute fixation du complément sera marquée par une baisse de l'hémolyse au dessous de ce chiffre . Les dilutions sont inutiles .

WADSWORTH et E. et F. MALTANER ont été parmi les premiers à utiliser le complément titré à 50 % d'hémolyse . Leur méthode nécessite l'emploi du rapport ($\frac{S + G}{S}$) ou (S + G) représente l'activité du complément exprimée en unités d'hémolyse à 50 % après incubation avec le sérum (S) en présence d'antigène (G), et (S) l'activité du sérum seul sans antigène . Après un titrage préalable déterminant l'unité 50 % de complément, la réaction est faite d'une

part avec I unité et une quantité fixe de sérum, et d'autre part avec 3,6 et I2 unités de complément et le sérum en présence de trois doses d'antigène, en ajustant pour avoir la réaction maximale dans au moins une combinaison, respectivement avec des sérums de richesse en réagine faible, moyenne et forte .

Avec un sérum de richesse moyenne, la réaction avec 3 unités peut ne donner aucune hémolyse, alors qu'avec 6 unités, elle peut donner une hémolyse partielle .

Avec un sérum très riche en réagine, les réactions avec 3 et 6 unités peuvent ne donner aucune hémolyse, alors qu'avec I2 unit elle donne une hémolyse partielle .

La lecture se fait dans le tube partiellement hémolysé. A l'aide d'une table, utilisant l'équation de von KROGH, est calculée la quantité de complément qui donnerait une hémolyse de 50 % . Parallélement est mesurée l'hémolyse dans le tube sans antigène et calculée la quantité de complément qui aurait donné une hémolyse de 50 %

Le rapport de la quantité de complément nécessaire à l'hémolyse à 50 % en présence de sérum et d'antigène à la quantité de complément nécessaire à l'hémolyse à 50 % avec le sérum seul, est considéré par A. WADSWORTH et E. et F. MALTANER (I938) comme un indice de la richesse en réagine . Des quotients supérieurs à l'unité correspondent à une réaction positive .

CHAPITRE III

ANTIGENES SYPHILITIQUES

Antigènes lipidiques .

La réaction de déviation du complément (de BORDET et GENGOU) fut appliquée aux sérums syphilitiques par WASSERMANN, NEISSER et BRÜCK grâce à l'utilisation comme antigène d'un extrait aqueux d'organes syphilitiques riches en tréponèmes (I906), et par DETRE presque simultanément . Dès la fin de I907, LANDSTEINER, MÜLLER et PÖTZL utilisaient avec succès dans la réaction de WASSERMANN un antigène apparemment sans rapport avec le tréponème : un extrait alcoolique de coeur de cobaye .

L'extrait alcoolique de nombreux organes convient comme antigène, notamment l'extrait alcoolique de coeur de boeuf qui a été pendant longtemps utilisé comme antigène . L'activité sérologique étant liée à la présence de la cardiolipine, phospholipide isolé en I94I par Mary PANGBORN, cette substance permet la préparation d'un antigène artificiel particulièrement satisfaisant, à la condition d'être associée à la lécithine et fixée sur des micro-cristaux de cholestérol. Ces trois substances doivent être d'ailleurs dans des proportions bien définies . E. et F. MALTANER (I945) ont montré que, pour la réaction de déviation du complément, le meilleur rapport lécithine/cardiolipine était de 5/I, ces deux constituants étant associés au cholestérol dans le rapport cholestérol/lécithine = 3,4/I . Par contre des rapports lécithine/cardiolipine de I,5 et cholestérol/lécithine de 6 donneraient un antigène hypersensible et sans valeur diagnostique .

Les antigènes lipidiques utilisés dans les réactions sérologiques classiques (extraits tissulaires ou antigènes artificiels faits de cardiolipine, de lécithine et de cholestérol) décèlent

la présence des réagines (I) dans les sérums syphilitiques. Ces réagines, substances responsables de la posivité des réactions, sont des anticorps antilipidiques dont l'apparition est provoquée par l'infestation tréponémique . Il est vraisemblable que les antigènes responsables de leur apparition proviennent du tréponéme ou de ses produits de dégradation .

L'utilisation d'un antigène spirochétien de culture a permi à EAGLE et HOGAN (1940) de mettre en évidence deux anticorps dans le sérum syphilitique . En effet, quand le sérum syphilitique est mis au contact d'un antigène lipidique tissulaire en excès, toute la réagine est éliminée, mais le filtrat donne encore des réaction d'agglutination et de fixation du complément avec des suspensions de tréponèmes non pathogènes de culture . Il existe donc, à côté d'un anticorps antilipidique semblable ou identique à la réagine, un deuxième anticorps anti-tréponémique, fixable par les corps tréponémiques mêmes.

Antigènes tréponémiques .

Alors que le tréponème pathogène n'a pu jusqu'à présent être cultivé, ont pu être isolées de lésions expérimentales des souches tréponémiques cultivables, mais non pathogènes . Telle est la souche de REITER : isolée par M. FICKER en 1922, utilisée dès 1927 par W. GAEHTGENS comme antigène dans une réaction de fixation du complément

---

I) Le terme " réagines " désigne dans notre travail, comme il est de règle en matière de réactions sérologiques de la syphilis, les substances responsables dé ces réactions, c'est-à-dire les anticorps antilipidiques . Ces réagines ne doivent naturellement pas être confondues avec les substances quelquefois désignées du même nom et qui sont dépistées dans le sérum des sujets allergiques .

la Pallida réaction, impliquant pour lui l'existence d'un anticorps différent de la réagine .

Ultérieurement G. d'ALESSANDRO et ses collaborateurs ont individualisé dans le tréponème non pathogène de culture souche REITER trois antigènes correspondant à trois anticorps différents : un anticorps L antilipidique équivalent de la réagine normalement décélée par les antigènes classiques d'origine tissulaire ; un anticorps TL antiprotidique dû à une fraction antigénique protidique thermolabile ; un anticorps TS anti-polysaccharidique dû à une fraction polysaccharidique thermostable . L'anticorps antipidique ne serait d'ailleurs pas unique l'anticorps L fixant le complément, un autre anticorps antilipidique serait responsable des floculations (V. PUCCINELLI) .

Une variété REITER particulière a permis d'obtenir un antigène appelé par les auteurs italiens Pallignost, et qui se comporte comme dépourvu de toute fraction lipidique; puis ont été utilisées des fractions antigéniques obtenues en soumettant les corps spirochétiens à diverses agressions (broyage mécanique, cryolyse, ultrasons, extractions chimiques) . Ces antigènes sont utilisés en réaction de fixation du complément, type Kolmer .

La spécificité de telles réactions n'est pas universellement admise et l'identité du tréponème de REITER et du tréponème pâle a même été niée puisque l'injection au lapin de tréponème de REITER ne le protège pas et ne produit pas d'anticorps immobilisant le tréponème pâle . Quoiqu'il en soit, le tréponème de culture, souche REITER, possède un antigène protéïquede groupe capable de détecter (dans une réaction de fixation du complément telle que la réaction de Kolmer) non seulement les anticorps immuns anti-Reiter obtenus chez l'animal avec les tréponèmes de culture, mais encore des anticorps développés au cours de la syphilis ou du pian .

L'emploi d'antigènes de REITER convenablement sélectionnés donnerait en réaction de fixation du complément de type Kolmer des résultats supérieurs aux réactions classiques, avec une sensibilité et surtout une spécificité comparable à celles de la réaction de fixation du complément au tréponème pâle délipidé, et à la réaction

d'immobilisation des tréponèmes (C.R. REIN et coll.).

En pratique, les réactions de fixation du complément à l'antigène de REITER et à l'antigène tréponémique pathogène auraient une sensibilité et une spécificité comparables, ce qui permettrait d'utiliser en routine l'antigène obtenu à partir du tréponème de REITER, nettement plus maniable (C.R. REIN et coll.), permettant de déceler un anticorps anti-protidique différent de la réagine antilipidique, d'apparition plus précoce et de caractère plus durable au cours de l'évolution de la syphilis .

DEUXIEME PARTIE

TECHNIQUE PERSONNELLE
de
REACTION QUANTITATIVE DE FIXATION DU COMPLEMENT

Le but de ce travail a été la mise au point d'une technique personnelle de réaction quantitative de fixation du complément, cette technique devant être avant tout simple et pratique pour pouvoir être utilisée facilement dans la pratique courante. Le principe de la réaction dérive de la réaction de Kolmer, mais s'en distinguepar les points suivants:

- utilisation de la méthode des dilutions du sérum par dédoublements successifs.
- technique adaptée à l'emploi du complément titré à 50 % d'hémolyse .
- emploi de 4 unités 50 % de complément (C' H 50).

Successivement vont être exposées la technique du titrage du complément à 50 % d'hémolyse, puis la technique de la réaction quantitative elle-même .

CHAPITRE I

TITRAGE DU COMPLEMENT A 50 % D'HEMOLYSE

Cette réaction est caractérisée par une grande sensibilité et nombreux sont les facteurs qui influent sur elle . Il faudra donc, pour que le titrage soit réellement précis, opérer dans des conditions techniques rigoureusement standardisées . Il est capital notamment, d'employer toujours dans la réaction, la même quantité de globules rouges de mouton; c'est pourquoi il faut parler d'abord de la préparation d'une suspension d'hématies standardisée .

Cette standardisation de la suspension globulaire se fait photométriquement avec une grande précision. Pour effectuer toutes les mesures, l'Electrocolorimètre Universel Tricellule Jobin-Yvon muni de l'écran vert N° 55 (= 5.500 A) a été utilisé - (le filtre 55 est recommandé par le constructeur pour le dosage d'hémoglobine) .

La suspension standard d'hématies de mouton est ainsi définie : 0,50 cm^3 de suspension globulaire + 5,50 cm^3 d'eau distillée donnent une solution d'hémoglobine dont la densité optique est de 20 unités de l' électrocolorimetre .

Pour obtenir cette suspension standard, on prépare une suspension d'hématies de mouton en ajoutant 2 parties de culot globulaire à 98 parties d'eau physiologique. Cette suspension à 2 % doit être au moins aussi concentréeque la suspension standard . On lyse 0,50 cm^3 de cette suspension par 5,50 cm^3 d'eau distillée : soit d la densité optique de la solution d'hémoglobine ainsi obtenue (d doit être égal ou supérieur à 20) . Pour obtenir la suspension globulaire standardisée, il suffit d'ajouter (d - 20) cm^3 d'eau physiologique à 20 cm^3 de la suspension globulaire à 20 %.

Ceci fait, on peut maintenant passer au titrage du complément à 50 % d'hémolyse. Répété avant chaque réaction, le titrage

du complément est effectué après incubation d'une heure à 37°C en présence d'une quantité fixe d'antigène . Il consiste à faire agir une heure à 37°C des volumes croissants de complément sur un volume fixe d'hématies de mouton sensibilisées et à déterminer ainsi le volume de complément capable d'hémolyser exactement 50 % des globules rouges présents .

Materiel utilisé - Pour toutes nos expériences, le matériel suivant a été utilisé :

- les réactions sont faites dans des tubes à hémolyse de I2 x 75 mm (tubes de Kahn pouvant être centrifugés).

- la préparation et la distribution des réactifs titrés sont faits à l'aide de pipettes précises de I cm^3 au I/IOO et de IO cm^3 au I/IO.

Cette verrerie doit être maintenue toujours chimiquement propre par lavage au mélange sulfochromique suivi de rinçage à l'eau distillée . L'emploi de savon ou des lessives est à proscrire pour le nettoyage.

En plus de cette verrerie, ont été employés un réfrigérateur, un bain-marie à 37°C et un à 56°C, une centrifugeuse et un électrocolorimètre Jobin-Yvon tricellule.

Réactifs .

a) Solution de chlorure de Sodium à 8,5 °/oo. Cette solution isotonique (eau physiologique) servira à préparer toutes les dilutions des réactifs . Elle doit être préparée avec du chlorure de sodium chimiquement pur, pour analyse, et de l'eau fraichement distillée . La solution doit être filtrée et stérilisée si on veut la garder plusieurs jours .

b) Le complément . On emploie le complément lyophilisé de l'Institut Pasteur, en ampoules scellées, à diluer au moment de l'emploi avec 0,5 ml du solvant spécial fourni avec les ampoules . On obtient ainsi le complément pur . Pour le titrage, on prépare à partir de ce dernier une solution au I/IOO (soit par exemple 0,I cm^3 de complément pur pour IO cm^3 d'eau physiologique) . Toutefois cette solution ne doit être faite que quelques instants avant la distribution

c) L'antigène - Dans ce travail, deux antigènes différents ont été utilisés .

- l'antigène cardiolipidique fourni par l'Institut Pasteur. Il s'agit d'un antigène semi-synthétique, solution alcoolique contenant par centimètre cube : 0,06 mg de cardiolipine, 0,05 mg de lécithine et 0,9 mg de cholestérol . Lorsque l'on mélange cet antigène à de l'eau salée à 8,5 °/oo, on obtient une suspension colloïdale de ces lipides antigéniques . On l'emploie en solution au I/200, soit 0,05 cm^3 pour IO cm^3 d'eau physiologique .

- l'antigène tréponémique de REITER également fourni par l'Institut Pasteur . Il s'agit d'un antigène protéique, extrait de tréponèmes non pathogènes Souche REITER par action des ultrasons. Il est employé ici en solution au I/80, soit I goutte du compte goutte spécial par centimètre cube d'eau physiologique.

d) le sérum hémolytique anti-mouton est utilisé en solution au I/IOOO, soit II gouttes du compte goutte de l'Institut Pasteur pour 25 cm^3 d'eau physiologique .

e) les hématies de mouton . On utilise la suspension standardisée préparée comme indiqué ci-dessus .

Ces deux derniers réactifs serviront également pour la réaction de fixation ; on les conservera donc au réfrigérateur.

Mode opératoire .

On dépose sur un portoir une série de I5 tubes à hémolyse . Dans chacun de ces tubes, on ajoute dans l'ordre, comme indiqué sur le tableau I :

- le complément au I/IOO.Le quinzième tube ne reçoit pas de complément : c'est un tube témoin qui ne doit présenter aucune trace d'hémolyse si les hématies sont de bonne qualité .

- de l'eau physiologique afin de compléter le volume de chaque tube à I,5 cm^3 .

- l'antigène à la dilution convenable, à raison de 0,30 cm^3 dans chaque tube .

TABLEAU I. - Titrage du complément à 50% d'hémolyse.

Numéro des tubes	I	2	3	4	5	6	7	8	9	I0	II	I2	I3	I4	I5
Complément au $\frac{I}{I00}$	0,03	0,06	0,09	0,I2	0,I5	0,I8	0,2I	0,24	0,27	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50	0
Eau physiologique	I,47	I,44	I,4I	I,38	I,35	I,32	I,29	I,26	I,23	I,20	I,I5	I,I0	I,05	I,00	I,50
Antigène	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30

On place alors le portoir dans un bain-marie à 37°C pendant une heure . Après quoi, on distribue dans chacun des tubes 0,30 cm^3 de la solution de sérum hémolytique et 0,30 cm^3 de la suspension standardisée d'hématies de mouton . Le portoir est à nouveau replacé dans le même bain-maris pendant une heure, mais il faudra prendre soin cette fois-ci d'agiter fréquemment les tubes pour éviter la sédimentation des globules qui fausserait les résultats du titrage en ne permettant pas une action régulière du complément .

Une heure après la distribution des globules rouges et du sérum hémolytique, on retire la portoir du bain-marie. On constate que l'hémolyse est nulle ou partielle dans les premiers tubes, totale ou presque totale dans les derniers tubes .

Pour évaluer le pourcentage exact d'hémolyse dans chacun des tubes, , les tubes sont centrifugés pendant 3 minutes à 3.000 tours/minute et on mesure à l'électrocolorimètre la densité optique des solutions d'hémoglobine surnageantes.

Le rapport entre la densité optique du liquide contenu dans un tube présentant une hémolyse partielle et celle du liquide contenu dans un tube où l'hémolyse est totale exprime le pourcentage d'hémolyse dans le tube ou l'hémolyse est partielle.

Tracé de la courbe d'hémolyse et détermination graphique de l'unité 50 % . Sur un papier millimétré on trace des axes de coordonnées et on porte en abcisses les volumes de complément au I/IOO contenus dans les différents tubes du titrage, et en ordonnées les pourcentages d'hémolyse corresondants . On trace la courbe reliant les points correspondants aux divers pourcentages d'hémolyse en fonction de la quantité de complément : on obtient une courbe en S (figure I) . L'abcisse du point de cette courbe d'ordonnée 50 (point d'inflexion) représente le volume de complément au I/IOO capable d'hémolyser 50 % des globules rouges de mouton employés : c'est l'unité 50 %; soit a ce volume, il renferme une unité 50 % de complément au I/IOO .

CHAPITRE II

REACTION QUANTITATIVE DE FIXATION DU COMPLEMENT

Préparation des réactifs .

a) les sérums doivent être bien limpides . On les décomplémente par chauffage au bain-marie à 56°C pendant une demi-heure. les dilutions ne seront faites qu'après ce chauffage .

b) le complément . On emploie le complément titré à 50 % d'hémolyse suivant la technique qui vient d'être décrite . Dans la réaction de fixation, on utilise 4 unités 50 % qu'on introduit dans un volume de I,20 cm^3 . La dilution I/x à laquelle il faut amener le complément pur pour avoir 4 unités 50 % dans I,20 cm^3, est donnée par la formule $\frac{I}{x} = \frac{a}{30}$ (a étant le volume de complément au I/I00 renfermant une unité 50 % et correspondant au point de la courbe de titrage du complément d'ordonnée 50 .

c) les autres réactifs : antigènes, globules rouges et sérum hémolytique sont les mêmes que ceux utilisés lors du titrage du complément et que l'on aura conservés au réfrigérateur.

Mode opératoire . On réalise à partir du sérum inactivé une gamme de dilution au demi dans de l'eau physiologique : I/2, I/4, I/8 ... jusqu'à I/I024 par exemple . On prépare un portoir de II tubes (en cas de dilution jusqu'au I/I024), plus un tube " Témoin - Sérum " (TS) pour déceler un éventuel pouvoir anti-complémentaire du sérum, et un tube " Témoin - Antigène " (TAG) commun à tous les sérums examinés en même temps .

Dans les onze premiers tubes, on distribue dans l'ordre (voir tableau II) :

- le sérum pur et aux différentes dilutions, à raison de 0,I5 cm^3 par tube ;

- l'antigène : 0,30 cm^3 de la suspension dans chaque tube, qu'il s'agisse de la cardiolipine ou de l'antigène REITER .

- le complément à la dilution $\frac{I}{x}$ sous un volume de I,2 cm^3. par tube .

Le tube " Témoin -Sérum " reçoit 0,I5 cm^3 de sérum pur, I,2 cm^3 de complément $\frac{I}{x}$, mais ne reçoit pas d'antigène . Om complète au volume des autres tubes en ajoutant 0,30 cm^3 d'eau physiologique .

Le tube " Témoin - Antigène ", ne reçoit pas de sérum, mais reçoit 0,30 cm^3 d'antigène, I,20 cm^3 de complément $\frac{I}{x}$ et 0,I5 cm^3 d'eau physiologique pour amener au volume commun .

Chaque tube est bien agité, et le portoir est alors laissé dans le réfrigérateur réglé à + 6° pendant I2 à I6 heures . Ensuite, avant de procéder à la distribution des deux derniers réactifs, les tubes sont chauffés par un séjour au bain-marie à 37°C pendant une dizaine de minutes . On ajoute alors dans chaque tube 0,30 cm^3 de la solution au I/I000 du sérum hémolytique, et 0,30 cm^3 de la solution globulaire standardisée, puis l'on remet le portoir à 37°C pendant une vingtaine de minutes . Après quoi les tubes sont centrifugés pendant 3 minutes à 3.000 tours/minute ; on mesure la densité optique des solutions surnageantes à l'électrocolorimètre comme dans le titrage du complément . Le pourcentage d'hémolyse d'un tube donné est exprimé par le rapport entre la densité optique du liquide surnageant contenu dans ce tube et celle d'un tube où l'hémolyse est totale .

Résultats - Tracé de la courbe d'hémolyse et détermination du titre du sérum .

Si le sérum examiné ne contient pas d'anticorps (sujet sain), le complément n'a pas été fixé par le système antigène - anticorps, et le pourcentage d'hémolyse est le même pour le sérum pur, les différentes dilutions et le " Témoin - Sérum " : tous ces tubes sont parfaitement hémolysés .

TABLEAU II - Réaction quantitative de fixation du complément (titré à 50% d'hémolyse).

	Pur	$\frac{I}{2}$	$\frac{I}{4}$	$\frac{I}{8}$	$\frac{I}{16}$	$\frac{I}{32}$	$\frac{I}{64}$	$\frac{I}{128}$	$\frac{I}{256}$	$\frac{I}{512}$	$\frac{I}{1024}$	TS	TAG
Sérum	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0
Antigène	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0	0,30
Eau	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,30	0,15
Complément $\frac{I}{x}$	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20	1,20

Si le sujetest syphilitique, son sérum contient des anticorps, et une certaine quantité du complément a été fixée par le système antigène - anticorps . On constate que les premiers tubes ne sont pas hémolysés, mais qu'au fur et à mesure que la dilution du sérum augmente, c'est-à-dire que la richesse en anticorps diminue, le pourcentage d'hémolyse s'accroit ; enfin l'hémolyse est totale ou presque totale dans les derniers tubes .

Le tube témoin du pouvoir anti-complémentaire du sérum (TS) doit présenter au moins 80 % d'hémolyse . S'il présente un pourcentage inférieur, c'est que le sérum est anti-complémentaire et fixe spontanément une certaine quantité de complément .

Pour tracer la courbe représentative des résultats, on porte sur un papier millimétré en abcisses, les dilution du sérum, et en ordonnées, les pourcentages d'hémolyse trouvés . On trace la courbe reliant les différents points correspondants aux pourcentages d'hémolyse en fonction des dilutions du sérum . Suivant que le sujet sera syphilitique ou non, on obtiendra deux types de courbe :

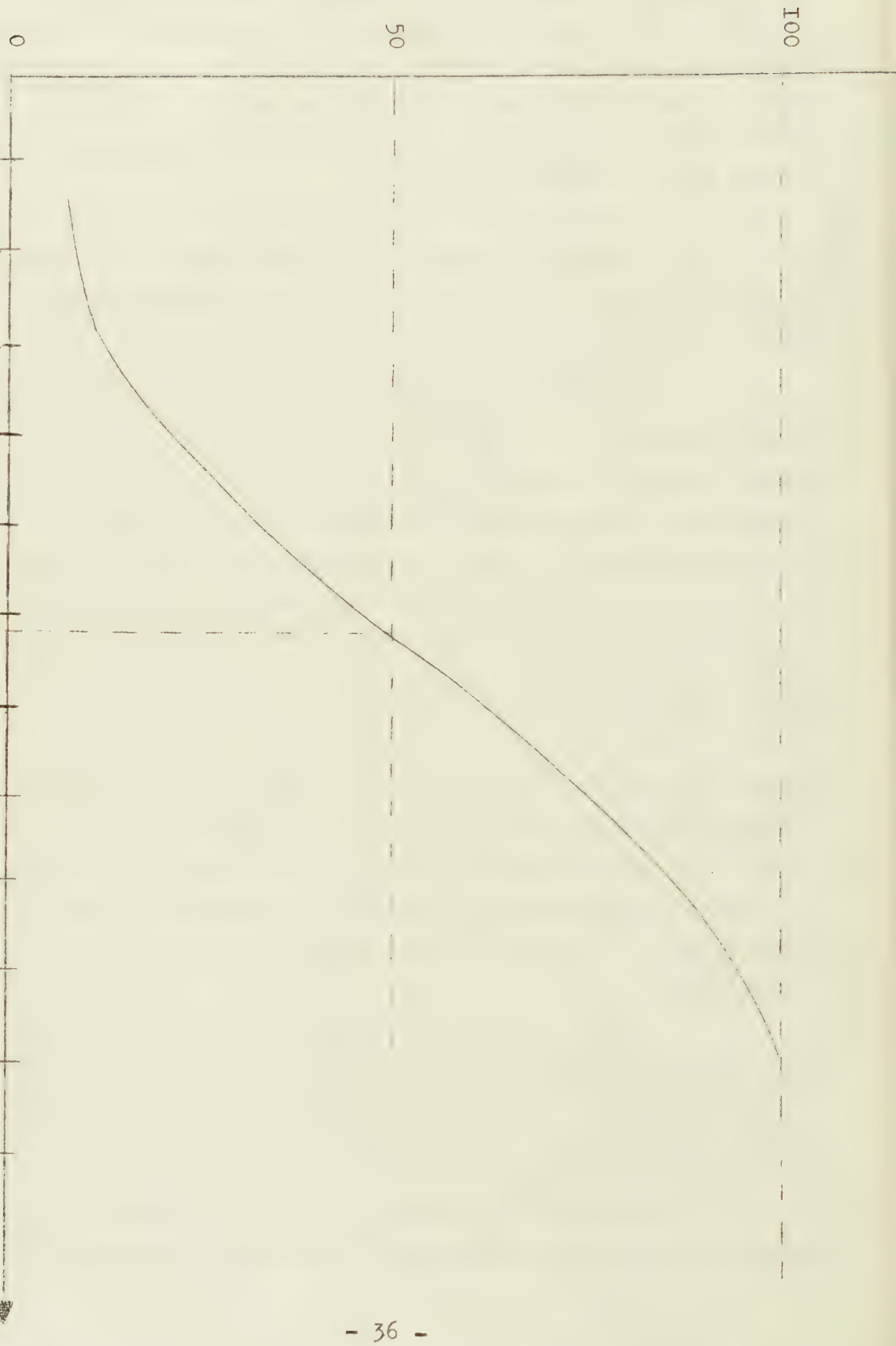
- Si le sérum ne contient pas d'anticorps l'hémolyse sera totale ou presque totale pour tous les tubes et la courbe obtenue sera une droite plus ou moins régulière, voisine de l'horizontale passant par la point I00 de l'axe des ordonnées .

Par contre, si le sérum contient des anticorps, le pourcentage d'hémolyse, d'abord faible, augmentera avec la dilution pour atteindre plus ou moins rapidement une hémolyse totale ou presque totale . La courbe obtenue sera une courbe en S . L'abcisse du point d'ordonnée 50 indiquera la dilution du sérum pour laquelle a lieu l'hémolyse de 50 % des globules rouges de mouton présents . (figure II) .

On voit donc que la réaction sera dite positive quand au moins un des tubes présentera un pourcentage d'hémolyse inférieur ou égal à 50 %, le titre en anticorps du sérum en question étant donné par l'inverse du taux de dilution le plus élevé donnant encore une réaction positive .

Inversement la réaction sera dite négative quand le pourcentage d'hémolyse des différents tubes sera supérieur à 50 %.

POURCENTAGE D'HEMOLYSE



CHAPITRE III

RESULTATS

A l'aide de cette technique, ont été testés IOO sérums (I) provenant de sujets différents et dont on connaissait la réponse à plusieurs réactions sérologiques courantes, à savoir la réaction de BORDET - WASSERMANN,(technique de DEMANCHE résultats exprimés en unités d'hémolyse) , la réaction de KOLMER à la cardiolipine et à l'antigène de REITER, les réactions quantitatives de KLINE, du V.D.R.L. et de REIN - BOSSAK . Suivant leur réponse à ces différentes réactions, ces sérums pouvaient être répartis de la manière suivante :

- I7 sérums fortement " positifs " à toutes ces réactions.
- I2 sérums négatifs .
- 7I sérums " douteux " avec réponse dissociée, dont 57 en particulier présentaient une dissociation dans les résultats comparés de la réaction qualitative de KOLMER à la cardiolipine et de la même réaction avec l'antigène de REITER, l'une des deux étant positive, l'autre négative .

Les résultats obtenus avec la méthode décrite ont été consignés dans le tableau III . Ils se sont révélés très satisfaisants et ont confirmé pleinement les résultats obtenus avec les réactions classiques dans 94 % des cas .

Ainsi les sérums connus comme étant fortement positifs (syphilis primaire récente) ont donné avec la technique proposée tant avec la cardiolipine qu'avec l'antigène de REITER des taux

---

I) Ces sérums proviennent du Service du Professeur MERKLEN à l'Hôpital Saint-Louis (Pavillon BROCQ).

élevés atteignant 64 et même I28. Dans le cas de M. PAN, par exemple, porteur d'un chancre typique du prépuce avec ultra positif et pour lequel les réactions classiques avaient donné comme résultat :

B.W.	H O	Kline	32
Kolmer (cardiol.)...	+++	V.D.R.L.	32
Kolmer (Reiter).....	+++	Rein-Bossak	I28

les titres de I28 avec la cardiolipine et de I6 avec l'antigène de REITER ont été obtenus avec la technique quantitative décrite plus haut. Il faut remarquer, que le titre obtenu avec l'antigène de REITER est inférieur à celui obtenu avec l'antigène cardiolipidique . Ceci semble être l'éventualité la plus fréquente et se retrouve dans le second exemple de sérum très positif, celui de M. DIA qui présentait un chancre du sillon balano-préputial :

B.W.	H O	Kline	8
Kolmer (cardiol.)...	+++	V.D.R.L.	8
Kolmer (Reiter).....	+++	Rein-Bossak	I6

les titres obtenus dans ce cas étaient respectivement de 32 pour la cardiolipine et de I6 pour l'antigène de REITER.

Avec tous les sérums négatifs choisis comme témoins, les pourcentages d'hémolyse obtenus ont été constamment supérieurs à 50 % et voisins de I00 %, donc une réaction négative et un taux en anticorps nul .

Exemple le sérum de Melle LEV. à l'occasion de l'examen prénuptial :

B.W.	H 8	Kline	-
Kolmer (cardiol.)...	-	V.D.R.L.	-
Kolmer (Reiter).....	-	Rein-Bossak	-

le titre de ce sérum avec l'un et l'autre antigène est de O .

Enfin avec les sérums appelés " douteux " ou présentant une dissociation entre les différentes réactions classiques, les résultats obtenus avec la méthode quantitative ont également

TABLEAU III. - Résultats comparatifs des réactions classiques et de la réaction quantitative proposée sur IOO sérums. a)

NOM	Diagnostic	B. W. (Demanche)	Kolmer (cardiol)	Kolmer (Reiter)	Kline	V.D.R.L.	Rein-Bossak	Titre selon la technique proposée	
								Cardiol	Antigène de Reiter
T. Adelio	Syph. sérologique	H8	-	++	-	-	++	2	8
F. Rabir	S. primaire en voie de négativ.	H8	-	+	-	+	++	0	8
B. André	S. ancienne	H8	-	+	-	+	+++	0	8
F. Suzanne	S. ancienne	H3	-	+++	8	I	2	4	8
N. Toussaint	S. ancienne	H8	-	+	-	I	2	0	4
G. André	S. primaire	HO	+++	+++	8	8	32	64	8
G. Marcel	S. primaire	HO	+++	-	±	I	2	64	4
A. Bachir	S. primaire	HO	+++	-	+	I	I	32	8
L. Jean	S. primaire	HO	+++	+	±	I	2	8	2
D. Georgette	S. primaire en négativation	HO	-	-	-	-	-	0	0
V. Francis	S. ancienne	HO	+++	-	±	-	+++	8	I
R. Belkacem	S. ancienne	H2	+++	-	I	I	I	8	I
O. Melki	S. primaire en négativation	H2	+++	-	2	2	4	32	2
O. Casimir	S. primaire	HO	+++	-	2	4	I6	8	I
V. Marie	S. ancienne	H8	-	++	-	+	++	0	4
L. René	S. secondaire en négativation	H8	-	+++	-	-	-	0	4
B. Mohamed	S. ancienne	H8	+++	+	I	I	2	4	I
T. Albert	S. primaire en négativation	H8	-	+++	-	-	-	0	4
M. Michel	S. primaire	H2	+++	-	2	2	8	4	2
W. Denise	S. sérologique	H8	-	+++	-	±	4	I	4
R. Jean	S. sérologique	H8	-	+++	-	±	+++	0	2
B. Paul	S. primaire en négativation	H8	-	+++	-	-	-	0	2
X ...	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0
N. Diallo	Contrôle sérologique	H8	+++	-	-	-	-	0	0

b)

D. Soma	S. primaire	HO	+++	+++	8	8	I6	32	I6
M. Germaine	S. ancienne	HO	+++	-	2	2	4	4	2
K. Alfred	S. primaire en négativation	H8	-	++	-	-	++	0	2
M. Anne-Marie	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0
C. Michel	S. primaire	HO	+++	+	2	2	4	I6	4
R. Marin	S. ancienne	H2	+++	-	I	2	4	8	8
N. Madeleine	S. primaire	HO	+++	-	4	8	I6	32	4
T. Lévrine	S. ancienne	HO	+++	-	4	4	8	8	4
M. Fernande	S. ancienne	H8	+++	-	I	I	2	4	4
T. Radislaw	S. primaire (en début de positivation	H8	+++	-	-	-	-	8	0
F. Berthe	S. sérologique	H8	-	+	-	+	++	4	4
B. Claude	S. primaire	HO	+++	+++	32	8	I6	I6	32
L. Colette	S. sérologique	H6	+++	-	-	-	++	0	0
G. Micheline	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0
D. Pierre	S. primaire négative	H8	-	+	-	-	-	0	0
F. Saïd	S. primaire négative	H8	-	±	+	-	-	0	0
P. Eugène	S. primaire	HO	+++	+++	32	32	I28	I28	I6
R. Geneviève	S. ancienne	H8	+++	-	-	±	++	4	I
L. Germaine	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0
G. Victor	S. primaire	HO	+++	-	8	4	8	32	2
L. Georgette	S. ancienne	H3	+++	-	±	2	8	2	0
S. Gilbert	S. primaire en négativation	H8	-	+++	-	-	-	0	4
B. André	S. primaire (début)	H3	++	-	±	-	++	4	0
B. Touaté	S. [illegible]	H4	+++	-	-	±	++	2	0
B. Yvonne	S. ancienne	HO	+++	-	I	2	8	2	0
C. Roger	Contrôle sérologique	H8	-	++	-	-	++	0	0

c)

B. Maurice	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0
M. Marcelle	S. ancienne	H4	+++	-	4	4	8	0	0
D. Louis	S. primaire en négativation	H8	++	+++	±	I	2	0	2
B. Philippe	S. ancienne	H2	+++	-	-	I	2	2	0
L. Mohammed	S. primaire en négativation	H5	+++	+	I	I	2	4	0
P. Léon	Controle sérologique	H8	±	-	-	-	+	0	0
M. Emile	S. sérologique	H8	++	-	±	2	2	2	0
C. Eugène	S. ancienne	H4	+++	-	-	2	2	8	0
B. Monique	S. primaire en négativation	H2	+++	±	-	I	2	2	0
E. Lucie	S. ancienne	H2	+++	-	-	I	I	8	0
S. Marie-France	S. ancienne	HO	+++	-	-	2	8	8	0
F. Alain	S. primaire	HO	+++	+++	4	I6	32	8	I6
D. Sema	S. primaire	H3	+++	+++	4	8	I6	I6	4
A. Rosaris	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0
V. Jeanne	S. primaire en négativation	H8	+++	-	I	I	4	0	2
C. Marie	S. ancienne	H8	+++	-	I	2	2	2	2
B. Daniel	S. primaire	HO	+++	+++	8	8	I6	32	I6
K. Marcel	S. primaire	HO	+++	-	4	4	8	8	2
B. André	S. primaire	HO	+++	-	2	2	4	I6	I6
R. Yvette	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0
R. René	S. primaire en négativation	H4	+++	-	I	2	4	4	2
B. Sakaouin	S. primaire	HO	+++	+++	±	2	4	I6	8
D. René	S. ancienne	H8	-	+++	I	2	2	8	4
B. Louis	S. primaire en négativation	H6	-	+++	I	I	2	2	4
A. Gisèle	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0
P. Joseph	S. primaire	HO	+++	+++	8	8	I6	64	I6
D. Fernande	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0

d)

N. Honoré	S. ancienne	H7	-	+++	-	I	4	32	4
M. Mohamed	S. ancienne	H6	-	++	-	-	4	I6	8
D. René	S. primaire en négativation	H6	AC	-	±	+	++	0	2
B. Berthe	S. ancienne	H3	+++	-	I	2	8	I6	4
N. Honoré	S. ancienne	HO	+++	-	-	I	2	32	2
B. Michel	S. primaire en négativation	H2	+++	+++	2	2	8	I6	0
P. Jean	S. sérologiquz	H8	+++	-	-	±	++	2	I
L. Annette	S. ancienne	H2	+++	-	-	2	4	I	2
P. Marins	S. ancienne	H2	+++	-	I	2	4	2	0
B. Georges	S. ancienne	H6	+++	-	-	2	4	4	I
P. Joseph	S. primaire en négativation	H2	+++	-	4	8	8	I6	8
L. Madeleine	S. ancienne	H5	xx	-	-	I	2	4	0
P. André	S. primaire négative	H8	++	-	-	-	-	0	0
K. Simbala	S. primaire	HO	+++	+++	4	8	I6	32	I6
L. Edith	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0
C. Jacques	S. primaire négative	H8	+++	+	-	-	-	0	0
O. Madeleine	S. ancienne	H8	+++	-	-	2	2	2	0
A. Suzanne	S. ancienne	H2	+++	-	I	4	8	8	0
K. Ambroise	S. primaire	HO	+++	+++	I6	I6	I6	32	64
P. Isabelle	S. primaire négative	H8	+++	++	-	-	-	0	2
C. Joseph	S. primaire en négativation	H8	++	-	I	I	2	2	8
A. René	Témoin	H8	-	-	-	-	-	0	0

confirmé, voire précisé ceux obtenus avec les autres méthodes . Ainsi a souvent été trouvée une réaction positive avec des taux assez bas, alors que la réaction qualitative correspondante avait été déclarée négative . De faibles positivités ont pu ainsi être décelées, que les réactions qualitatives habituelles n'avaient pu montrer . Par exemple dans le cas de M. ADJ. qui présentait un chancre balano préputial récent avec ultra positif, les réactions habituellement pratiquées avaient donné la réponse suivante :

B.W.	H O	Kline	+
Kolmer (cardiol.)...	+++	V.D.R.L.	I
Kolmer (Reiter).....	-	Rein-Bossak	I

Les réactions quantitatives pratiquées avec la cardiolipine et avec l'antigène de REITER ont donné dans le premier cas une réponse encore positive au titre de 32, et dans l'autre cas une réaction encore positive au titre de 8 alors que la réaction qualitative correspondante avait été négative . Inverse est le cas de M. SAR., porteur d'une syphilis primaire en voie de négativation , et pour lequel les réactions classiques avaient donné comme résultat :

B.W.	H 8	Kline	-
Kolmer (cardiol.)...	-	V.D.R.L.	-
Kolmer (Reiter).....	+++	Rein-Bossak	-

Dans cet exemple, la réaction quantitative s'est révélée négative avec la cardiolipine et faiblement positive (titre = 4) avec l'antigène de REITER . Ceci témoigne de la persistance plus prolongée dans le sang des anticorps antiprotidiques au cours de l'évolution de la syphilis .

Il faut en venir maintenant aux cas de discordance entre la technique quantitative proposée et les réactions classiques, survenus avec six sérums sur les cent étudiés .

Sur ces six sujets, quatre d'entre eux avaient présenté une syphilis primaire ayant été précocément traitée ; chez eux les réactions sérologiques classiques commençaient à évoluer vers la

négativation. Voici par exemple le cas de M. DEM. pour qui on avait comme résultat :

B.W.	H 8	Kline	±
Kolmer (cardiol.),...	++	V.D.R.L.	I
Kolmer (Reiter)...	+++	Rein-Bossak	2

Avec la réaction quantitative de fixation du complément, des titres de 0 avec la cardiolipine et de I avec l'antigène de REITER, ont été trouvés .

Les deux autres cas de discordance étaient des sujets présentant une syphilis ancienne n'ayant été traitée que tardivement. La réponse de ces sérums aux réactions sérologiques classiques était dissociée . Ainsi pour M. MER. on avait :

B.W.	H 6	Kline	-
Kolmer (cardiol.).....	-	V.D.R.L.	-
Kline (Reiter).....	++	Rein-Bossak	+

Les titres obtenus ont été dans ce cas de I6 avec la cardiolipine et de 8 avec l'antigène de REITER, ce qui correspond à des taux en anticorps relativement élevés .

Cette discordance peut être expliquée peut-être par le fait que l'on emploie ici 4 unités de complément au lieu de 2 dans la méthode qualitative de Kolmer .

CHAPITRE IV

L'INTERET DES REACTIONS QUANTITATIVES

On voit donc qu'avec une réaction quantitative de fixation du complément, on peut apprécier d'une façon beaucoup plus précise la teneur en anticorps d'un sérum qu'avec une méthode qualitative qui elle ne donne qu'une réponse affirmative ou négative et qui peut même donner des résultats inexacts lorsque le taux d'anticorps est très faible . L'intérêt des méthodes quantitatives réside dans le fait que le taux de réagine dans le sang au cours de la syphilis évolue de la même façon que le taux d'anticorps observé au cours de l'immunisation expérimentale par un antigène quelconque d'origine microbienne ou non . Dans cette évolution, on peut distinguer deux périodes : la période qui suit le premier contact de l'organisme neuf avec l'antigène, durant laquelle le taux d'anticorps monte régulièrement jusqu'à atteindre un maximum; ensuite l'allure de la courbe sérologique change suivant que l'on maintient ou non l'organisme en contact avec l'antigène .

Première période - L'apparition de l'anticorps dans le sérum ne commence qu'un certain temps après le premier contact de l'organisme neuf avec l'antigène . Cette phase de latence est variable, de quelques jours à quelques semaines. Puis le taux d'anticorps monte rapidement et la courbe atteint son maximum.

Deuxième période - Une fois ce maximum atteint, trois cas sont à envisager :

I° - Si l'organisme n'est plus soumis à l'imprégnation antigénique, le taux d'anticorps baisse lentement jusqu'à s'annuler au bout d'un laps de temps plus ou moins long (de quelques mois à quelques années) .

2° - Si à un moment donné de cette phase descendante de la courbe sérologique, l'organisme est mis de nouveau en contact avec l'antigène, le taux d'anticorps remonte, et en général plus vite et plus haut que lors du premier contact . C'est ce qu'on appelle en immunologie la réaction anamnestique : l'organisme est considéré comme étant encore en état d'alerte . La courbe sérologique redescend ensuite normalement et atteint le niveau zéro si l'imprégnation antigénique cesse .

3° - Si au contraire l'organisme est soumis à un contact quasi permanent avec l'antigène (syphilis nontraitée ou tardivement traitée), le taux d'anticorps après avoir atteint un maximum, baisse un peu mais se stabilise toujours à un certain niveau . Tout se passe comme si l'organisme avait contracté l'habitude de produire cet anticorps à un taux constant et conservait cette faculté à peu près indéfiniment alors même que toute excitation antigènique a cessé depuis longtemps .

On voit tout l'intérêt que peuvent prendre les réactions quantitatives qui permettent de mesurer le taux des anticorps présents dans le sérum . Intérêt notamment dans la surveillance du traitement des syphilis récentes où l'on peut suivre la courbe sérologique notamment dans sa phase de défervescence . Deux cas sont en effet à envisager .

I°- Si le traitement a été suffisant et efficace, les tréponèmes ont définitivement disparu et le taux de réagine baisse de façon plus ou moins régulière pour s'annuler enfin . Le temps précédant la négativation sérologique est variable suivant les individus et suivant l'intervalle séparant le début de la maladie du début du traitement . Il est en général de deux ou trois mois et ne doit pas excéder six à huit mois . Les auteurs américains recommandent d'effectuer un examen quantitatif toutes les semaines pendant six mois, et ensuite, si la sérologie est négative, un examen tous les six mois pendant deux ou trois ans pour permettre d'affirmer la guérison .

Voici comme exemple d'évolution de la réaction quantitative trois examens successifs effectués chez M. PHI. sujet ayant

présenté un chancre typique du fourreau et traité dès le début des signes cliniques (par Rovamycine, Penicilline puis Bismuth).

Le premier examen, fait avant le début du traitement donnait comme résultat :

B.W.	H O	Kline	8
Kolmer (Cardiol.).....	+++	V.D.R.L.	8
Kolmer (Reiter)	+++	Rein-Bossak	I6

Les titres obtenus étaient de 64 avec la cardiolipine et de I6 avec l'antigène de REITER .

Trois semaines après le début du traitement, modification des résultats, les réactions commencant à évoluer vers la négativation.

B.W.	H 2	Kline	4
Kolmer (Cardiol.).....	+++	V.D.R.L.	8
Kolmer (Reiter).....	-	Rein-Bossak	8

Les titres sont alors de I6 avec la cardiolipine et de 8 avec l'autre antigène . Une légère baisse des taux en anticorps commence à se faire .

Après cinq mois de traitement correct, on a les résultats suivants :

B.W.	H 8	Kline	I
Kolmer (Cardiol.) ...	++	V.D.R.L.	I
Kolmer (Reiter).....	-	Rein-Bossak	2

avec un titre de 2 avec l'antigène lipidique et de 8 avec l'antigène protéïque .

Ainsi en cinq mois, le taux en réagines du sérum d'un sujet atteint de syphilis primaire est passé de 64 à 2 . Le taux des anticorps anti-Reiter,lui, a évolué moins rapidement .

2° - Si le traitement n'a pas été suffisamment efficace et a permis à certains tréponèmes de survivre, ceux-ci sont susceptibles un jour ou l'autre de reprendre une croissance active, et le malade fait une rechute . Il peut se produire également une réinfection . De toute manière l'organisme soumis de nouveau à une

imprégnation antigénique massive des tréponèmes répondra en formant un taux élevé de nouveaux anticorps . Ceci se traduira par une remontée de la courbe jusqu'alors descendante, et cette remontée précèdera toujours l'apparition de nouveaux signes cliniques et commandera la reprise du traitement . Il est donc capital de déceler cette augmentation du taux de réagine - d'autant que l'allure de la courbe peut permettre de différencier une réinfection donnant une remontée brusque d'une rechute donnant une remontée lente .

Dans les syphilis anciennes, l'intérêt des réactions quantitatives et de la courbe syphilimétrique est moins grand . Chez eux le taux de réagine reste sensiblement constant et l'examen de la courbe ne permet pas de conclure à l'existence ou à l'absence d'un foyer tréponémique en activité .

Bien plus grand est l'intérêt d'une méthode quantitative pour le diagnostic des " fausses réactions " . L'existence de ces réactions faussement positives est un fait bien connu . Spontanément ou sous des influences diverses (nombreuses maladies infectieuses, lèpre,maladies virales, maladies par auto-anticorps, etc...), il peut apparaitre dans le sang et par un mécanisme encore inexpliqué, des globulines qui se comportent vis-à-vis de la cardiolipine comme la réagine syphilitique . Ces fausses réagines ont un caractère transitoire ou permanent (le cas est fréquent chez certains individus de race noire en particulier) . La sérologie quantitative apporte non pas une certitude, mais un élément de plus dans le diagnostic de ces fausses réactions . Le taux de réagine est relativement bas et la courbe syphilimétrique, quelquefois stationnaire, présente habituellement des évolutions irrégulières et indépendantes de la conduite du traitement. Les réactions qualitatives sont alors souvent dissociées et variables .

Enfin, intérêt d'une réaction quantitative chez le nouveau né où la surveillance quantitative d'une sérologie positive permet de différencier une syphilis congénitale vraie où le titre en anticorps s'élève, d'une transmission passive des anticorps maternels où leur titre s'abaisse .

On peut encore signaler l'intérêt d'une méthode quantitative dans le cas d'un sérum trop riche en réagines : la dilution d'un tel sérum élimine une réponse faussement négative dûe à un phénomène de zone

---

CHAPITRE V

INTERET DE L'ANTIGENE DE REITER

Tous les auteurs qui ont étudié cet antigène s'accordent à bien reconnaitre une sensibilité et une spécificité plus grandes que celles de la cardiolipine . Ainsi HAMELIN, dans une étude comparative de la sensibilité et de la spécificité du test d'immobilisation des tréponèmes (T.P.I.), de la fixation du complément à l'antigène REITER ultrasoné et de la sérologie classique, a trouvé les résultats suivants :

	I	2	3	4	5	6	7	8
T.P.I.	+	-	+	+	+	-	-	-
Reiter	+	-	-	-	+	+	+	-
B.W.	+	-	-	+	-	+	-	+
Nombre de sérums	209	20I	I0	I5	38	I0	4	24
Pourcentage	40,90	39,35	I,95	2,95	7,45	I,95	0,75	4,7

Ce tableau permet de constater, d'une part une concordance (colonnes I et 2)de positivité ou de négativité dans 80,25 % des cas, dans les trois types de méthodes sérologiques utilisées ; d'autre part, des discordances dans I9,75 % des cas .

Si l'on prend le T.P.I comme critère de sensibilité et de spécificité, on remarque que le Reiter aura manqué de sensibilité pour 4,90 % des sérums (colonnes 3 et 4), et le B.W. dans 9,40 % des cas (colonnes 3 et 5) . De même la spécificité du Reiter a été en défaut dans 2,70 % des cas (colonnes 6 et 7) alors que les

réactions faussement positives de la sérologie classique s'élèvent à 6,65 % (colonnes 6 et 8).

Par ailleurs PAUTRIZEL et ses collaborateurs ont étudié l'apparition et l'évolution des anticorps anti-Reiter et antilipidiques chez le lapin syphilisé expérimentalement et non traité . Ils ont constaté que les anticorps anti-Reiter apparaissaient régulièrement avant l'antilipidique et plus intensément aussi que ce dernier . Cette discordance est surtout nette dans les trois à quatre premiers mois de l'infection ; plus tard, les titres des deux anticorps considérés se rapprochent et tendent à s'égaliser .

Cette précocité de l'anticorps anti-Reiter au début de l'infection syphilitique expérimentale se retrouve également au début de la syphilis humaine au stade primaire . Ce fait peut être facilement vérifié et c'est l'un des avantages que l'on reconnait à ces antigènes tréponémiques de culture .

Quant à l'évolution de ces anticorps lorsqu'on arrête l'infection par un traitement spécifique, deux éventualités peuvent se produire selon que ce traitement est institué à la phase précoce ou tardive de la maladie . Chez des lapins récemment syphilisés et traités par la Penicilline entre le 25e et le 33e jour après l'inoculation infectante, on constate une chute immédiate et rapide du titre en anticorps anti-Reiter, alors que les réagines, moins dociles à la thérapeutique, décroissent plus lentement et ne disparaissent totalement que les dernières .

Au contraire, lorsque l'animal est traité tardivement soit II6 à 360 après l'inoculation, la disparition des anticorps est inversée . Le traitement entraine tout d'abord une élévation du titre en réagine alors que l'anticorps anti-Reiter reste peu influencé ; par la suite, les réagines accusent une chute assez rapide alors que l'anticorps anti-tréponémique décroit beaucoup plus lentement et disparait le dernier .

En conclusion donc les antigènes tréponémiques Reiter représentent un grand progrès sur les réactifs lipidiques employés en sérologie classique, du fait de leur plus grande sensibilité et

meilleure spécificité . Ils mettent en évidence des anticorps différents de la réagine antilipidique, anticorps qui sont décelables très précocement dans la syphilis primaire où la réaction est positive avant la sérologie classique .Cependant leur manipulation est plus délicate, en particulier du fait de leur pouvoir anti-complémentaire. Ils peuvent donc être utilisésdans certain cas mais on ne peut les substituer complétement à la sérologie classique. C'est pourquoi nous pensons qu'il est souhaitable d'associer les antigènes cardiolipidiques aux antigènes tréponémiques que ce soit en sérologie qualitative ou en sérologie quantitative .

RESUME

La réaction quantitative décrite dans ce travail dérive de la technique de Kolmer, mais elle s'en distingue par les points suivants :

- la technique de la réaction est adapté à l'emploi du complément titré à 50 % d'hémolyse .

- la quantité de complément utilisé a été fixée à 4 unités 50 % .

Titrage du complément à 50 % d'hémolyse .

L'unité de complément dite à 50 % d'hémolyse résulte de l'étude de la courbe d'hémolyse établie en fonction de doses variables de complément et de doses fixes d'hémolysine et de globules rouges de mouton . Cette courbe, dont la formule mathématique a pu être établie (von KROGH), présente une forme en S et permet la détermination graphique de la valeur de l'unité 50 %, le point d'inflexion correspondant à la quantité de complément lysant 50 % de la totalité des globules rouges, c'est-à-dire l'unité 50 %. L'intérêt du choix de cette unité est que la mesure du complément ainsi effectuée est beaucoup plus précise que lorsque l'on utilise l'unité classique (à IOO % d'hémolyse) .

En outre, élément essentiel de mesure, la lecture de la réaction se fait non pas à l'oeil nu, mais photométriquement, d'où une précision et une sensibilité encore encore accrues. L'usage du photomètre permet en outre de standardiser la suspension de globules rouges de mouton et de faire tous les titrages avec rigoureusement la même quantité d'hématies, ce qui rend les résultats indépendants de ce facteur .

La Réaction Quantitative de Fixation du Complément

Pour évaluer le taux d'anticorps d'un sérum, nous avons choisi la méthode des dilutions par dédoublements successifs . Elle

consiste à effectuer une réaction qualitative sur chacune des dilutions utilisées sous le même volume que le sérum pur . Le titre en anticorps du sérum est exprimé par l'inverse du taux de dilution le plus élevé donnant encore une réaction positive .

Quant à la technique utilisée, elle est voisine de celle de Kolmer . Après une incubation prolongée (I2 à I6 heures) a basse température du mélange sérum, complément (4 unités 50 %) et antigène (nous avons utilisé comparativement la cardiolipine et l'antigène de Reiter), on ajoute une dose précise de globules rouges et après un certain temps, on mesure au photomètre le pourcentage d'hémolyse des différentes dilutions .

On peut alors tracer la courbe du pourcentage d'hémolyse des différentes dilutions et connaitre ainsi le titre du sérum étudié .

Le titrage du complément et la réaction quantitative de fixation du complément sont effectués suivant un mode opératoire bien standardisé pour permettre la détermination de l'unité 50 % et du titre du sérum dans les meilleures conditions possibles .

Les résultats .

I00 sérums ont été examinés,dont on connaissait la réponse aux réactions de BORDET WASSERMANN (Technique de Demanche) de Kolmer à la cardiolipine et à l'antigène de Reiter, de Kline, du V.D.R.L. et de Rein-Bossak . Suivant leur réponse, ces sérums se répartissaient de la manière suivante :

- I7 sérums fortement positifs.
- I2 sérums négatifs.
- 7I sérums douteux avec réponse dissociée.

Les résultats obtenus avec la méthode quantitative proposée se sont révélés en accord dans 94 % des cas avec ceux des autres réactions . Ainsi les sérums des sujets présentant une syphilis primaire récente ont donné des taux en anticorps élevés, atteignant 64 et même I28 . Les sérums des sujets sains pris comme témoins ont tous donné une réaction négative. Quant aux sérums qui présentaient

une dissociation, les résultats ont confirmé et même précisé ceux des autres méthodes . C'est ainsi que de faibles positivités ont pu être décélées que les réactions qualitatives n'avaient pu montrer .

Pour six sérums seulement il y a eu discordance entre les résultats de la réaction quantitative et ceux des autres réactions.

Intérêt de la réaction quantitative dans la syphilis .

Cette réaction présente un grand intérêt pour suivre l'évolution dans le temps du taux des anticorps dans le sérum d'un syphilitique . On connait en effet actuellement l'intérêt majeur de la courbe quantitative pour le contrôle de l'infection syphilitique et on a constaté que les variations du taux de la réagine suivaient les lois de l'immunologie générale .

Lorsqu'un foyer tréponémique est en activité dans un organisme neuf (syphilis récente , primo-secondaire) l'organisme répond en produisant de la réagine dont le taux dans le sang s'élèvera régulièrement pendant les premières semaines de la maladie, jusqu'à un maximum .

- Si sous l'effet du traitement institué durant cette période, la croissance du tréponème est stoppée, la courbe de réagine décroit lentement jusqu'à un taux nul .

- Si, au contraire, la croissance du tréponème reprend activement, ou si le malade se réinfecte, le taux de réagine remonte alors brusquement pendant un certain temps avant l'apparition de tous nouveaux signes cliniques, ce qui commande la reprise immédiate du traitement .

Dans les cas de syphilis anciennes, non traitées ou tardivement traitées, la sérologie quantitative perd progressivement de son intérêt, et au stade ultime, l'organisme a acquis en quelques sorte l'habitude de produire la réagine sérique à un taux sensiblement constant, même en l'absence de tout foyer tréponémique en activité (" cicatrice sérologique ", " Bordet-Wassermann irréductible ").

La réaction quantitative est également intéressante pour la surveillance d'un nouveau-né dont la sérologie est positive . Elle permet de différencier une syphilis congénitale vraie où le titre en anticorps s'élève, d'une transmission passive des anticorps maternels où le titre s'abaisse .

La réaction quantitative enfin est indispensable au diagnostic des " fausses réactions " . Le titre en anticorps est alors en général bas, et son évolution est des plus irrégulières, et indépendante du traitement .

Intérêt de l'antigène Reiter .

L'antigène tréponémique de Reiter représente un grand progrès sur les réactifs lipidique employés en sérologie classique, du fait de sa plus grande sensibilité et de sa meilleure spécificité . Il met en évidence des anticorps différents de la réagine, anticorps qui sont décelables très précocement dans la syphilis primaire où la réaction est positive avant la sérologie classique. Il présente cependant quelques inconvénients, en particulier un fort pouvoir anti-complémentaire. C'est pourquoi on ne peut le substituer complètement à la sérologie classique .

CONCLUSIONS

Le but de ce travail a été la mise au point d'une réaction quantitative de fixation du complément qui puisse être facilement exécutée en pratique courante et qui bénéficie de la précision apportée par une hémolyse à 50 pour cent .

La technique dérive de celle de la réaction de Kolmer et comporte comme elle deux temps : d'abord un titrage du complément puis la réaction proprement dite ; mais elle s'en distingue par les points suivants :

- emploi de 4 unités de complément titré à 50 % d'hémolyse .
- utilisation de la méthode des dilutions du sérum par dédoublements successifs.
- mesure photométrique du pourcentage d'hémolyse .

La réaction quantitative a été étudiée ici avec deux antigènes : la cardiolipine et l'antigène tréponémique de REITER.

Sur I00 sérums examinés, les résultats se sont révélés en accord dans 94 % des cas avec les données des réactions sérologiques habituelles . Ainsi avec les sérums de sujets présentant une syphilis primaire récente, des taux élevés atteignant 64 et même I28, ont été obtenus. De même tous les sérums de sujets sains choisis comme témoins ont donné une réaction négative .

Enfin pour les sérums qui présentaient une dissociation dans leur réponse aux différentes réactions sérologiques habituelles, les résultats obtenus avec la méthode quantitative ont également confirmé, voire précisé ceux obtenus avec les autres méthodes . C'est ainsi que de faibles positivités ont peu être décélées, que les réactions qualitatives n'avaient pu montrer .

Pour 6 sérums seulement il y a eu discordance entre les résultats obtenus avec la méthode quantitative et ceux des autres réactions sérologiques.

Il semble donc que l'on puisse conseiller cette technique pour suivre l'évolution du taux des anticorps au cours de la syphilis, évolution qui constitue un guide précieux pour le clinicien dans la marche de cette maladie .

Vu : Le Doyen

L. BINET

Vu : Le Président de Thèse

F. P. MERKLEN

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

J. ROCHE

- B I B L I O G R A P H I E -

I - ALESSANDRO, G. d', ODDO, F.G., DARDANONI, L. - The antigèns of the cultured treponema pallidum (Reiter's strain) and the antispirochetal antibodies in human syphilis .
J. Ven. Dis. Inform. I950, 3I, 3I4 .

2 - ALESSANDRO, G. d', DARDANONI, L. Isolation and purification of the protein antigen of the Reiter treponem. A study of its serologie reaction .
Am. J. Syph. Gonor. and Ven. Dis. I953, 37, I37 .

3 - BERTHAUX, P.R. - L'estimation quantitative des anticorps du sérum . Son application à la sérologie quantitative de la syphilis.
Thèse Med. Paris, I95I, III2, I52 p.

4 - BORDET, J. - Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses. Masson ed. 879 p. Paris I939 .

5 - COLEMAN, P.N. - Brit. J. Ven. Dis. I952, 28, I29 .

6 - DIACONO, H., RIVEMALE, Y. - Sérologie de la syphilis . Réaction de déviation du complément par utilisation du sérum de cobaye anti-mouton et expression des résultats en unités d'hémolyse à 50 %.
Ann. Biol. Clin. I957, I5, 43I .

7 - EAGLE, H. - Reactions between lipoïds and antibodies - The isoelectric point and composition of the aggregates obtained on adding beef heart lipoïd to syphilitic serum .
J. Immunol. I935, 29, 467 .

8 - EAGLE, H., HOGAN, R.B. - On the presence in syphilitic serum of antibodies to spirochetes, their relation to so-called Wassermann reagin, and their significance for the sero-diagnostic of syphilis.
J. Exp. Med. I940, 7I, 2I5 .

9 - GAEHTGENS, W. - Die bisherigen Erfahrungen mit der Pallida reaktion zum serologischen Luesnachweis.
Arch. für Der. Syph. I937, I76, 42 .

IO - HAMELIN, A. - Les antigènes tréponémiques dans le séro-diagnostic de la syphilis .
Le François éd. I42 p. Paris I959.

II - HOFFMANN, E. - Berlin. Klin. Wchn. I907, I2, 35I .

I2 - KABAT, E.A., MAYER, M.M. - Experimental immunochemistry. C.C. Thomas, Pub. 905 p., Springfield I96I .

I3 - KENT, J.F. - J. Lab. and Clin. Med. I946, 3I, I270 .

I4 - KENT, J.F., BUKANTZ, S.C., REIN, C.R. - Studies in complement fixation - I/ Spectrophometric titration of complement - Construction of graphs for direct determination of the 50 per cent hemolytic unit.
J. Immunol. I946, 53, 37 .

I5 - KENT, J.F. - Science I947, I05, 306 .

I6 - von KROGH, M. - J. Inf. Dis. I9I6, I9, 452 .

I7 - LANDSTEINER, K., MUCHA, V. - Wien. Klin. Wchn. I906, I9, I349.

I8 - LANDSTEINER, K., MULLER, R., PÖTZL, O. - Wien. Klin. Wchn. I907, 20, I565 .

I9 - LAPORTE, R. - Immunologie de l'hémolyse - Modalités de l'action inhibitrice des sérums normaux .
Ann. Inst. Pasteur. I952, 83, 823 .

20 - LAPORTE, R., HARDRE DE LOOZE, L et SILLARD, R. - Immunologie de l'hémolyse - Immunisation anti-hémolytique .
Ann. Inst. Pasteur. I953, 84, 532 .

2I - LAPORTE, R., HARDRE DE LOOZE, L. et SILLARD, R. - Contribution à l'étude du complément .
Ann. Inst. Pasteur, I957, 92, I5 .

22 - LEVADITI, C. et MARIE, A. - Ann. Inst. Pasteur, I907, 2I, I38 .

23 - LEVADITI, C. et YAMANOUCHI, I. - C.R. Soc. Biol. I907, 63, 740.

24 - MALTANER, E., MALTANER, F. - The standardization of the cardiolipin-lecithin-cholesterol antigen in the complement fixation test for syphilis .
J. Immunol. I945, 5I, I95 .

25 - MALTANER, E., GNESH, G.M. - A method for the determination of titers between IO and IOO in the quantitative complement fixation test for syphilis .
J. Lab. and Clin. Med. I948, 33, 383 .

26 - MAYER, M.M., EATON, B. B., HEIDELBERGER, M. - Spectrophotometric standardization of complement for fixation tests.
J. Immunol. I946, 53, 3I .

27 - MAYER, M.M., OSLER, A.G., BIER, O., HEIDELBERGER, M. - The activating effect of magnesium and other cations on the hemolytic function of complement .
J. Exp. Med. 1946, 84, 535 .

28 - MAYER, M.M., OSLER, A.G., HEIDELBERGER, M. - Quantitative studies of complement fixation - A method .
J. Immunol. 1948, 59, 195 .

29 - MAYER, M.M., CROFT, C.C., GRAY, M.M. - Kinetic studies on immune hemolysis - A method .
J. Exp. Med. 1948, 88, 427 .

30 - MAYER, M.M. - Immunochemistry - Ann. Rev. Biochem. 1951, 20, 415

31 - MERKLEN, F.P., BERTHAUX, P. - Essai d'appréciation quantitative des réagines des sérums syphilitiques par microdosage d'azote.
AAnn. Dermat. Syph. 1952, 79, 418 .

32 - METCHNIKOFF, E., et ROUX, E. - Ann. Inst. Pasteur, 1903, 17, 808.

33 - MIGUE, J. - Etude critique des réactions quantitatives utilisant des antigènes cardiolipidiques.
Thèse Med. Lyon, 1955/56 - 302 .

34 - MUSCHEL, L.H., LOWE, K.M. - A new complement test for syphilis.
J. Lab. and Clin. Med. , 1955, 46, 147 .

35 - OSLER, A.G., STRAUSS, J.H., MAYER, M.M. - Diagnostic complement fixation . I/ A method - II/ Application to the sero-diagnostic of syphilis .
Amer. J. Syph. 1952, 36, 140 et 154 .

36 - PANGBORN, M.C. - A new serologically active phospholipid from beef heart .
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1941, 48, 484 .

37 - PANGBORN, M.C. - Isolation and purification of a new serologically action phospholipid from beef heart.
J. Biol. Chem. 1942, 143, 247 .

38 - PAUTRIZEL, R. , BONNARDOT, R.F., et SZERNOVICZ, F. - La sérologie de la syphilis avec un antigène constitué de tréponèmes de culture désintégrés par les ultra-sons (TUS). I - Evolution des anticorps anti TUS . au cours de l'infection syphilitique.
Ann. Inst. Pasteur, 1957, 92, 586 .

39 - PUCCINELLI, V. - Pluralités des anticorps des sérums syphilitiques - Importance en pratique clinique.
Sem. Hôp. Paris. 1953, 29, 118./

40 - REIN, C.R. - Colloque international sur la syphilis .
Paris. 1950, 177 .

41 - ROULIER, P. - Sur une réaction quantitative de fixation du complément titré à 50 % d'hémolyse .
Recueil. Trav. Inst. Nat. Hygiène . 1952, 4, 823 .

42 - SCHAUDINN, E., HOFFMANN, E., -
Arb. a.d. Kaiserl. Gesundheitamte. 1905, 22, 257 .

43 - SCHAUDINN, E., HOFFMANN, E. -
Deutsche Med. Wochenschr. 1908, 18, 711 .

44 - STEIN, G.J., DANG VAN NGU. - A quantitative complement fixation test : titration of luetic sera by the mit of 50 per cent hémolysis.
J. Immunol. 1950, 65, 17 .

45 - WADSWORTH, K., MALTANER, E., MALTANER, F. - The quantitative determination of the fixation of complement by immune serum and antigen.
J. Immunol. 1931, 21, 313 .

46 - WADSWORTH, A., MALTANER, F., MALTANER, E. - Quantitative studies of the réaction of complement fixation with syphilitic serum and tissue extract .
J. Immunol. 1938, 35, 105 .

47 - WASSERMANN, A., NEISSER, A., BRÜCK , C. -
Deutsche. Med. Wochenschr. 1906, 19, 745 .

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-